(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) **1-0049038**

(51)[7] **C07K 16/18**; A61P 3/04; A61K 39/395; A61P 21/00

(13) **B**

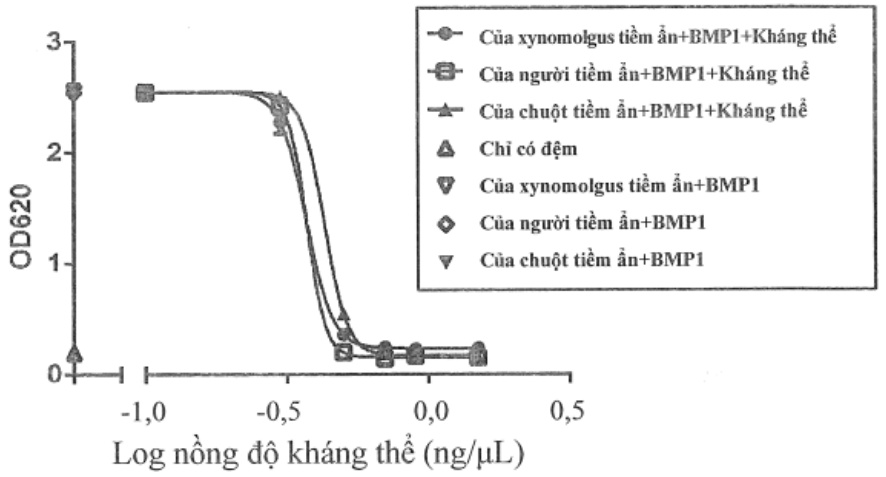
(21) 1-2019-00290
(22) 16/06/2017
(86) PCT/JP2017/022257 16/06/2017
(87) WO/2017/217525 21/12/2017
(30) 2016-120337 17/06/2016 JP
(45) 25/07/2025 448
(43) 27/05/2019 374A
(73) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 1158543 (JP)
(72) RUIKE, Yoshinao (JP); KURAMOCHI, Taichi (JP); MURAMATSU, Hiroyasu (JP); UEYAMA, Atsunori (JP).
(74) Công ty Cổ phần Hỗ trợ phát triển công nghệ Detech (DETECH)

(54) CHẾ PHẨM DƯỢC BAO GỒM KHÁNG THỂ GẮN KẾT VỚI MYOSTATIN TIỀM ẨN

(21) 1-2019-00290

(57) Sáng chế đề cập đến các kháng thể kháng myostatin và các phương pháp tạo ra chúng. Các axit nucleic mã hóa các kháng thể kháng myostatin và các tế bào chủ bao gồm các axit nucleic cũng được cung cấp. Sáng chế cũng đề cập đến các polypeptit chứa vùng Fc biến đổi và các phương pháp tạo ra chúng. Các axit nucleic mã hóa các polypeptit và các tế bào chủ bao gồm các axit nucleic cũng được cung cấp.

[Fig. 1]



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các kháng thể kháng myostatin và các phương pháp sử dụng chúng. Sáng chế cũng đề cập đến các polypeptit chứa các vùng Fc biến đổi và các phương pháp sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Myostatin, còn được đề cập đến như yếu tố biệt hóa sinh trưởng-8 (growth differentiation factor: GDF8), là protein tiết ra và là một thành viên của liên họ protein chất kích thích sinh trưởng biến đổi-beta (TGF-beta). Các thành viên của liên họ này sở hữu đặc tính điều hòa sinh trưởng và phát sinh hình thái (xem, ví dụ, tài liệu 1, tài liệu 2 và tài liệu patent 1). Myostatin được biểu hiện chủ yếu trong cơ xương người trưởng thành và người đang trong quá trình phát triển và thực hiện chức năng như một yếu tố điều hòa âm đối với sự phát triển của cơ. Sự biểu hiện quá mức một cách có hệ thống của myostatin ở chuột trưởng thành dẫn tới nhẽo cơ (xem, ví dụ, tài liệu 3) trong khi, ngược lại, chuột bị loại bỏ myostatin có đặc trưng bởi sự phì đại và tăng sinh cơ xương dẫn đến khối lượng cơ lớn hơn từ hai đến ba lần so với cùng lứa kiểu dại của chúng (xem, ví dụ, tài liệu 4).

Giống như các thành viên khác của họ TGF-beta, myostatin được tổng hợp như một protein tiền chất lớn chứa miền propeptit đầu N, và một miền đầu C được coi như phân tử hoạt động (xem, ví dụ, tài liệu 5; tài liệu patent 2). Hai phân tử của tiền chất myostatin này được liên kết cộng hóa trị thông qua một liên kết disulfit đơn có mặt trong vùng yếu tố sinh trưởng đầu C. Myostatin trưởng thành hoạt động (homodime được liên kết disulfit chứa vùng yếu tố sinh trưởng đầu C) được giải phóng từ tiền chất myostatin thông qua nhiều bước của quá trình phân giải protein. Ở bước thứ nhất của chu trình hoạt hóa myostatin, một liên kết peptit giữa miền propeptit đầu N và vùng yếu tố sinh trưởng đầu C, Arg266-Asp267, được phân tách bởi tiền protein convertaza kiểu furin trong cả hai chuỗi của tiền

chất homodime. Nhưng ba peptit tạo ra (hai propeptit và một myostatin trưởng thành (tức là, homodime được liên kết disulfit bao gồm các vùng yếu tố sinh trưởng)) còn lại được liên kết, tạo thành một phức hợp không hoạt hóa không cộng hóa trị mà được đề cập đến như "myostatin tiềm ẩn". Myostatin trưởng thành sau đó có thể được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn thông qua sự thoái biến của propeptit này. Các thành viên của họ protein phát sinh hình thái xương 1 (bone morphogenetic protein 1: BMP1) của các metalloproteinaza phân tách một liên kết peptit đơn bên trong propeptit này, Arg98-Asp99, cùng với sự giải phóng myostatin hoạt hóa, trưởng thành, là một homodime (xem, ví dụ, tài liệu 6). Hơn nữa, myostatin tiềm ẩn này có thể được hoạt hóa *in vitro* bởi sự phân tách phức hợp bởi, hoặc là xử lý axit hoặc là xử lý nhiệt (xem, ví dụ, tài liệu 7).

Myostatin tạo nên hiệu ứng của nó thông qua một họ thụ thể heterotetrame serin/threonin kinaza chuyển màng, mà sự hoạt hóa của chúng làm tăng cường sự chuyển phosphoryl hóa thụ thể, dẫn tới sự kích thích hoạt tính serin/threonin kinaza. Đã biết rằng chu trình myostatin này liên quan đến sự hoạt hóa myostatin dime gắn kết với thụ thể activin kiểu IIB (ActRIIB) với ái lực cao, mà sau đó phục hồi và kích hoạt sự chuyển phosphoryl hóa của thụ thể ái lực thấp, kinaza giống activin 4 (ALK4) hoặc kinaza giống activin 5 (ALK5). Cũng đã biết rằng các protein Smad 2 và Smad 3 tiếp tục được hoạt hóa và tạo thành các phức hợp với Smad 4, mà phức hợp này sẽ được chuyển vị trí đến nhân để hoạt hóa sự phiên mã gen đích. Cũng đã chứng minh được rằng ActRIIB có thể đóng vai trò trung gian chi phối myostatin *in vivo*, như sự biểu hiện dạng âm tính trội của ActRIIB trong chuột được mô phỏng loại bỏ gen myostatin (xem, ví dụ, tài liệu 8).

Có một số rối loạn hoặc các tình trạng liên quan đến nhẽo cơ (tức là, mất hoặc suy yếu chức năng của mô cơ), như chứng loạn dưỡng cơ (MD; bao gồm chứng loạn dưỡng cơ Duchenne), xơ cột bên teo cơ (ALS), sự teo cơ, sự teo cơ quan, thể trạng yếu ớt, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), suy giảm khối cơ, và bệnh suy mòn cơ do ung thư hoặc các rối loạn khác, cũng như bệnh thận, suy tim hoặc bệnh tim, và bệnh gan. Các bệnh nhân sẽ hưởng lợi từ việc tăng cường

về khối lượng cơ và/hoặc sức bền cơ; tuy nhiên, hiện khả năng điều trị bị giới hạn đối với các rối loạn này. Do đó, với vai trò như một bộ chất điều hòa âm đối với của sự phát triển cơ xương, nên myostatin trở thành một đích mong muốn đối với sự can thiệp để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh đối với các rối loạn hoặc các tình trạng này, hoặc để giám sát sự tiến triển đối với các rối loạn hoặc các tình trạng này. Cụ thể là, các tác nhân mà ức chế hoạt tính của myostatin có thể là có lợi về mặt điều trị.

Việc ức chế sự biểu hiện myostatin cũng dẫn tới sự phì đại và sự tăng sinh cơ (tài liệu 4). Myostatin điều hòa âm sự tái tạo cơ sau khi tổn thương và việc thiếu hụt myostatin trong chuột bị loại bỏ myostatin dẫn đến sự tái tạo cơ nhanh hơn (xem, ví dụ, Tài liệu 9). Các kháng thể kháng myostatin (GDF8) được mô tả ở, ví dụ, tài liệu patent 3, tài liệu patent 4, tài liệu patent 5, tài liệu patent 6, và tài liệu patent 7, và tài liệu patent 8, tài liệu patent 9, và tài liệu patent 10 cho thấy gắn kết với myostatin và ức chế hoạt tính myostatin *in vitro* và *in vivo*, bao gồm hoạt tính myostatin liên quan đến sự điều hòa âm của khối cơ xương. Các kháng thể trung hòa myostatin làm tăng trọng lượng cơ thể, khối cơ xương, và kích cỡ và độ bền cơ trong cơ xương của chuột kiểu dại (xem, ví dụ, tài liệu 10) và chuột mdx, mẫu chuột bị loạn dưỡng cơ (xem, ví dụ, tài liệu 11, tài liệu 12). Tuy nhiên, tất cả các kháng thể đã biết trong tình trạng kỹ thuật này là đặc hiệu đối với myostatin trưởng thành chứ không đặc hiệu đối với myostatin tiềm ẩn, và các chiến lược được mô tả để ức chế hoạt tính myostatin đã sử dụng kháng thể mà có khả năng gắn kết với và trung hòa myostatin trưởng thành.

Các kháng thể đang thu hút sự chú ý như các dược phẩm do chúng ổn định ở mức cao trong huyết và ít tác dụng phụ (xem, ví dụ, tài liệu 13 và tài liệu 14). Hầu như tất cả các kháng thể điều trị hiện có trên thị trường là các kháng thể của lớp phụ người IgG1. Một trong số các chức năng đã biết của các kháng thể lớp IgG là chức năng gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (sau đây được gọi là hoạt tính ADCC) (xem, ví dụ, tài liệu 15). Đối với kháng thể để biểu hiện hoạt tính ADCC, thì vùng Fc của kháng thể phải gắn kết với thụ thể Fc gama (sau đây

được gọi là Fc gama R) mà là thụ thể gắn kết kháng thể có mặt trên bề mặt tế bào đáp ứng như các tế bào tiêu diệt, các tế bào tiêu diệt tự nhiên, và các bạch cầu được hoạt hóa.

Ở người, các đồng phân Fc gama RIa (CD64A), Fc gama RIIa (CD32A), Fc gama RIIb (CD32B), Fc gama RIIIa (CD16A), và Fc gama RIIIb (CD16B) đã được báo cáo như họ protein Fc gama R, và các kiểu quyết định kháng nguyên tương ứng cũng đã từng được báo cáo (xem, ví dụ, tài liệu 16). Fc gama RIa, Fc gama RIIa, và Fc gama RIIIa được gọi là Fc gama R hoạt hóa do chúng có các chức năng hoạt động về mặt miễn dịch học, và Fc gama RIIb được gọi là Fc gama R ức chế do nó có các chức năng ức chế miễn dịch (xem, ví dụ, tài liệu 17).

Trong sự gắn kết giữa vùng Fc và Fc gama R, một vài gốc axit amin trong vùng bản lề kháng thể và miền CH2, và chuỗi hợp chất nhóm đường được gắn với Asn tại vị trí 297 (hệ đánh số EU) được gắn kết với miền CH2 đã cho thấy sự quan trọng (xem, ví dụ, tài liệu 18, tài liệu 19, và tài liệu 20). Các biến thể khác có các đặc tính gắn kết Fc gama R, chủ yếu là các kháng thể có các đột biến được đưa vào giữa các vị trí này, đã từng được nghiên cứu chừng mực nào đó; và các biến thể vùng Fc có các hoạt tính gắn kết cao hơn đối với Fc gama R hoạt hóa cũng đã thu được (xem, ví dụ, tài liệu patent 11, tài liệu patent 12, tài liệu patent 13, và tài liệu patent 14).

Khi một Fc gama R hoạt hóa được liên kết chéo với một phức hợp thể miễn dịch, nó phosphoryl hóa các motif hoạt hóa dựa vào tyrosin của thụ thể miễn dịch (immunoreceptor tyrosine-based activating motifs: ITAM) có trong miền nội bào hoặc chuỗi FcR gama thông thường (đối tác tương tác), hoạt hóa tín hiệu bộ chuyển đổi SYK, và kích hoạt đáp ứng miễn dịch gây viêm bằng cách khởi đầu một đợt tín hiệu hoạt hóa (xem, ví dụ, tài liệu 21).

Fc gama RIIb là Fc gama R duy nhất được biểu hiện trên các tế bào B (xem, ví dụ, tài liệu 22). Sự tương tác của kháng thể vùng Fc với Fc gama RIIb đã từng được báo cáo để ngăn ngừa đáp ứng miễn dịch sơ cấp của các tế bào B (xem, ví

dụ, tài liệu 23). Hơn thế nữa, nó đã được báo cáo rằng khi Fc gama RIIb trên các tế bào B và tế bào thụ thể B (BCR) được liên kết chéo thông qua một phức hợp miễn dịch trong máu, thì sự hoạt hóa tế bào B và việc sản xuất kháng thể bởi các tế bào B được ngăn ngừa (xem, ví dụ, tài liệu 24). Trong sự truyền tín hiệu ức chế miễn dịch tín hiệu do BCR và Fc gama RIIb, thì cần motif ức chế dựa vào tyrosin của thụ thể miễn dịch (ITIM) chứa trong miền nội bào của Fc gama RIIb (xem, ví dụ, tài liệu 25 và tài liệu 26). Khi ITIM được phosphoryl hóa trong khi đang phát tín hiệu, thì inositol polyphosphat 5-phosphataza chứa SH2 (SHIP) được phục hồi, sự truyền tính trạng của các đợt hoạt hóa tín hiệu Fc gama R khác được ức chế, và sự đáp ứng miễn dịch viêm được ngăn ngừa (xem, ví dụ, tài liệu 27). Hơn thế nữa, sự tập hợp của Fc gama RIIb đơn độc đã từng được báo cáo để ngăn ngừa tạm thời sự nhập bào canxi do liên kết chéo BCR và sự tăng sinh tế bào B theo kiểu độc lập với BCR mà không gây ra việc chết cheo chương trình của các tế bào B sản xuất IgM (xem, ví dụ, tài liệu 28).

Fc gama RIIb cũng được biểu hiện trên các tế bào đuôi gai, các đại thực bào, các bạch cầu trung tính được hoạt hóa, dưỡng bào, và bạch cầu ưa kiềm. Fc gama RIIb ức chế các chức năng của Fc gama R hoạt hóa như sự thực bào và sự giải phóng của các xytokin viêm trong các tế bào này, đồng thời triệt tiêu các đáp ứng miễn dịch gây viêm (xem, ví dụ, tài liệu 17).

Tầm quan trọng của các chức năng ức chế miễn dịch của Fc gama RIIb đã được làm sáng tỏ ở một chừng mực nào đó thông qua các nghiên cứu sử dụng chuột bị loại bỏ Fc gama RIIb. Có các báo cáo rằng đối với chuột bị loại bỏ Fc gama RIIb, sự miễn dịch thể dịch không được điều hòa một cách thích đáng (xem, ví dụ, tài liệu 29), chứng viêm khớp do collagen hướng nhạy sáng (CIA) đã được tăng cường (xem, ví dụ, tài liệu 30), các triệu chứng như bệnh luput xuất hiện, và các triệu chứng như hội chứng Goodpasture cũng xuất hiện (xem, ví dụ, Tài liệu 31).

Ngoài ra, sự không tương xứng khi điều hòa của Fc gama RIIb đã từng được báo cáo là có liên quan đến các bệnh tự miễn ở người. Lấy ví dụ, mối quan hệ

giữa tính đa hình về kiểu gen trong vùng xuyên màng và vùng trình tự khởi đầu của Fc gama RIIb, và tính thường xuyên của sự phát triển của bệnh luput ban đỏ hệ thống (SLE) (xem, ví dụ, tài liệu 32, tài liệu 33, tài liệu 34, tài liệu 35 và tài liệu 36), và việc giảm sự biểu hiện Fc gama RIIb trên bề mặt của các tế bào B ở các bệnh nhân SLE (xem, ví dụ, tài liệu 37 và tài liệu 38) cũng đã được báo cáo.

Từ các mẫu chuột và các phát hiện lâm sàng như vậy, Fc gama RIIb được coi là đóng vai trò kiểm soát các bệnh tự miễn và các bệnh viêm mà có liên quan cụ thể với tế bào B, và nó là một phân tử đích triển vọng để kiểm soát các bệnh tự miễn và các bệnh viêm.

IgG1, chủ yếu được sử dụng như một kháng thể điều trị thương mại, đã biết để gắn kết với không chỉ với Fc gama RIIb, mà còn gắn kết mạnh với Fc gama R hoạt hóa (xem, ví dụ, tài liệu 39). Nó có thể có khả năng phát triển các kháng thể điều trị có các đặc tính ức chế miễn dịch tốt hơn so với các kháng thể điều trị của IgG1, bằng cách sử dụng vùng Fc với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, hoặc sự liên kết có chọn lọc Fc gama RIIb được cải thiện so với Fc gama R hoạt hóa. Ví dụ, đã từng được đề xuất là việc sử dụng kháng thể có vùng biến đổi mà gắn kết với BCR và Fc với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường có thể ức chế sự hoạt hóa tế bào B (xem, ví dụ, tài liệu 40). Đã được báo cáo rằng Fc gama RIIb liên kết chéo trên các tế bào B và IgE được gắn kết với thụ thể tế bào B ức chế sự biệt hóa của các tế bào B trong các tế bào huyết tương, mà kết quả là gây ra sự ức chế sự sản xuất IgE; và ở chuột được cấy ghép PBMC của người, nồng độ IgG và IgM của người được duy trì trong khi nồng độ IgE của người suy giảm (xem, ví dụ, tài liệu 41). Ngoài IgE, cũng có báo cáo rằng khi Fc gama RIIB và CD79b là phân tử cấu tạo của phức hợp thụ thể tế bào B được liên kết chéo bởi kháng thể, thì sự tăng sinh tế bào B *in vitro* được ngăn ngừa, và các triệu chứng viêm khớp được giảm bớt trong mẫu viêm khớp collagen (xem, ví dụ, tài liệu 42).

Ngoài các tế bào B, đã từng được báo cáo rằng liên kết chéo của Fc epsilon RI và Fc gama RIIb lên dưỡng bào sử dụng các phân tử, trong đó phần Fc của IgG với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường được nối với phần Fc của IgE gắn

kết với thụ thể IgE RI Fc epsilon, gây ra sự phosphoryl hóa của Fc gama RIIb, nhờ đó ngăn ngừa sự nhập bào canxi phụ thuộc RI Fc epsilon. Điều này gợi ý rằng sự ức chế của quá trình mất hạt nhỏ nhờ sự kích thích Fc gama RIIb là có thể bằng cách tăng cường sự gắn kết Fc gama RIIb (xem, ví dụ, tài liệu 43).

Do đó, một kháng thể có Fc với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được cải thiện được đề xuất để triển vọng trở thành tác nhân điều trị cho các bệnh viêm như bệnh tự miễn.

Hơn thế nữa, đã có báo cáo rằng sự hoạt hóa của các đại thực bào và các tế bào đuôi gai nhờ thụ thể giống Toll 4 do sự kích thích LPS được ngăn ngừa với sự có mặt của phức hợp thể miễn dịch kháng thể-kháng nguyên, và hiệu quả này cũng được đề xuất để trở thành các hoạt động của phức hợp thể miễn dịch nhờ Fc gama RIIb (xem, ví dụ, tài liệu 44 và tài liệu 45). Do đó, việc sử dụng các kháng thể với sự gắn kết Fc gama RIIb tăng cường được mong đợi để có thể tăng cường các hoạt động ngăn ngừa sự hoạt hóa tín hiệu thông qua TLR; do đó các kháng thể này đã từng được đề xuất có tiềm năng trở thành các tác nhân điều trị đối với các bệnh viêm như các bệnh tự miễn.

Ngoài ra, các đột biến với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường cũng đã được đề xuất để trở thành các tác nhân điều trị triển vọng đối với bệnh ung thư, cũng như các tác nhân điều trị đối với các bệnh viêm như các bệnh tự miễn. Cho đến nay, Fc gama RIIb đã cho thấy vai trò quan trọng trong hoạt tính chủ vận của các kháng thể chủ vận kháng lại thụ thể liên họ kháng TNF. Cụ thể là, đã từng được đề xuất rằng sự tương tác với Fc gama RIIb là cần thiết đối với hoạt tính chủ vận của các kháng thể kháng CD40, DR4, DR5, CD30, và CD137, mà chúng thuộc họ thụ thể TNF (xem, ví dụ, tài liệu 46, tài liệu 47, tài liệu 48, tài liệu 49, tài liệu 50, tài liệu 51 và tài liệu 52). Tài liệu 46 đã cho thấy rằng việc sử dụng các kháng thể với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường làm tăng hiệu quả của các kháng thể kháng CD40. Do đó, các kháng thể với Fc gama RIIb được tăng cường được mong đợi để có hiệu quả về nâng cao hoạt tính chủ vận của các kháng thể chủ vận bao gồm các kháng thể kháng liên họ thụ thể kháng TNF.

Ngoài ra, cũng đã thấy rằng sự tăng sinh tế bào được ngăn ngừa khi sử dụng kháng thể nhận dạng Kit, một loại của thụ thể tyrosin kinaza (RTK), để liên kết chéo Fc gama RIIb và Kit trên tế bào biểu hiện Kit. Các hiệu quả tương tự cũng đã được báo cáo ở những trường hợp mà Kit này được hoạt hóa một cách cơ định và có các đột biến mà gây ra sự phát sinh ung thư (xem, ví dụ, tài liệu 53). Do đó, được mong đợi rằng việc sử dụng các kháng thể với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường có thể tăng cường sự ức chế hiệu quả trên các tế bào biểu hiện RTK có các đột biến được hoạt hóa một cách cơ định.

Các kháng thể có Fc với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được cải thiện đã từng được báo cáo (xem, ví dụ, tài liệu 40). Trong ấn phẩm này, hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được cải thiện bằng các thay thế bổ sung như S267E/L328F, G236D/S267E, và S239D/S267E cho kháng thể vùng Fc. Trong số chúng, kháng thể được đưa vào với sự đột biến S267E/L328F gắn kết mạnh nhất với Fc gama RIIb, và duy trì mức gắn kết giống nhau với Fc gama RIa và Fc gama RIIa kiểu H trong đó một gốc tại vị trí 131 của Fc gama RIIa là His mà của một IgG1 xuất hiện trong tự nhiên. Tuy nhiên, báo cáo khác thể hiện rằng sự biến đổi này tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIa kiểu R trong đó gốc tại vị trí 131 của Fc gama RIIa là Arg gấp vài trăm lần so với mức gắn kết như của Fc gama RIIb, điều này có nghĩa là tính chọn lọc gắn kết Fc gama RIIb là không được cải thiện khi so với kiểu-R Fc gama RIIa (xem, ví dụ, tài liệu patent 15).

Chỉ với hiệu quả của việc tăng cường gắn kết Fc gama RIIa mà không tăng cường sự gắn kết Fc gama RIIb vẫn được coi là có tác dụng trên các tế bào như các tiểu cầu mà biểu hiện Fc gama RIIa, nhưng không biểu hiện Fc gama RIIb (xem, ví dụ, tài liệu 17). Ví dụ, nhóm các bệnh nhân mà được cung cấp bevacizumab, kháng thể kháng VEGF, được biết đến làm tăng nguy cơ nghẽn mạch (xem, ví dụ, tài liệu 54). Hơn thế nữa, hiện tượng nghẽn mạch đã từng được quan sát theo cách tương tự trong các thử nghiệm phát triển lâm sàng của các kháng thể kháng phối tử CD40, và nghiên cứu lâm sàng này bị đình chỉ (xem, ví dụ, tài liệu 55). Trong cả hai trường hợp của các kháng thể này, các nghiên cứu

sau này sử dụng các mẫu động vật và như vậy được đề xuất rằng các kháng thể được cung cấp liên kết các tiểu cầu nhờ Fc gama RIIa gắn kết trên các tiểu cầu, và tạo thành các huyết khối (xem, ví dụ, tài liệu 56 và tài liệu 57). Trong bệnh luput ban đỏ hệ thống, mà vốn là một bệnh tự miễn, thì các tiểu cầu được hoạt hóa nhờ cơ chế phụ thuộc Fc gama RIIa, và sự hoạt hóa tiểu cầu tương quan với mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng cũng đã được báo cáo (xem, ví dụ, tài liệu 58). Việc cung cấp kháng thể với gắn kết Fc gama RIIa được tăng cường cho các bệnh nhân mà vốn đã có nguy cơ cao đối với việc phát triển hiện tượng nghẽn mạch sẽ làm tăng nguy cơ phát triển hiện tượng nghẽn mạch, do đó điều này là rất nguy hiểm.

Hơn thế nữa, các kháng thể với sự gắn kết Fc gama RIIa được tăng cường đã từng được báo cáo để tăng cường sự thực bào kháng thể phụ thuộc tế bào thông qua đại thực bào (ADCP) (xem, ví dụ, tài liệu 59). Khi các kháng nguyên được gắn kết bởi các kháng thể được thực bào bởi các đại thực bào, thì bản thân các kháng thể này cũng bị thực bào. Khi các kháng thể được cung cấp như các dược phẩm, thì được coi là các mảnh peptit có nguồn gốc từ các kháng thể được cung cấp là thích hợp xuất hiện như một kháng nguyên, khiến làm tăng nguy cơ của sản phẩm kháng thể kháng các kháng thể điều trị (kháng lại kháng thể điều trị). Cụ thể hơn, việc gắn kết Fc gama RIIa tăng cường sẽ làm tăng nguy cơ của sản phẩm kháng thể kháng các kháng thể điều trị, và điều này sẽ giảm đáng kể giá trị khi dùng làm dược phẩm. Hơn thế nữa, Fc gama RIIb trên các tế bào đuôi gai đã từng được đề xuất để góp phần cho sự dung nạp thuốc ngoại vi bằng cách ức chế sự hoạt hóa tế bào đuôi gai được gây ra bởi các phức hợp thể miễn dịch được tạo thành giữa các kháng nguyên và các kháng thể, hoặc bằng cách ngăn ngừa sự biểu hiện kháng nguyên đối với các tế bào T nhờ các thụ thể Fc gama hoạt hóa (xem, ví dụ, tài liệu 60). Do Fc gama RIIa cũng được biểu hiện trên các tế bào đuôi gai, nên khi các kháng thể có Fc có sự sự liên kết có chọn lọc với Fc gama RIIb được tăng cường được sử dụng như dược phẩm, thì các kháng nguyên này không dễ dàng được thể hiện bằng các tế bào đuôi gai và do việc sự liên kết có chọn lọc với

Fc gama RIIb được tăng cường, nên nguy cơ của sản phẩm kháng thể kháng thuốc có thể được giảm tương ứng. Các kháng thể này có thể là hữu ích khi được tiếp cận như vậy.

Cụ thể hơn, giá trị như dược phẩm sẽ bị giảm đáng kể khi gắn kết Fc gama RIIa được tăng cường, khiến dẫn tới nguy cơ làm tăng sự hình thành cục máu đông bởi sự tập hợp tiểu cầu và tăng rủi ro đối với sản phẩm kháng thể kháng điều trị do chất kháng nguyên được tăng cường.

Từ quan điểm này, biến thể Fc nêu trên với sự gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường thể hiện gắn kết Fc gama RIIa kiểu-R tăng đáng kể so với dạng của IgG1 xuất hiện trong tự nhiên. Do đó, giá trị của nó về khía cạnh dược phẩm đối với bệnh nhân đang mang Fc gama RIIa kiểu-R được giảm đáng kể. Các kiểu H và R của Fc gama RIIa quan sát được trong các chủng tộc người da trắng và người Mỹ da đen xuất hiện với tần suất tương đương (xem, ví dụ, tài liệu 61 và tài liệu 62). Do đó, nếu biến thể Fc này được sử dụng để điều trị các bệnh tự miễn, thì số bệnh nhân có thể sử dụng một cách an toàn để đạt được hiệu quả như dược phẩm sẽ bị hạn chế.

Hơn thế nữa, trong các tế bào đuôi gai thiếu Fc gama RIIb hoặc các tế bào đuôi gai mà trong đó có sự tương tác giữa Fc gama RIIb và mảnh kháng thể Fc được ức chế bằng kháng thể kháng Fc gama RIIb, các tế bào đuôi gai đã từng được báo cáo đến khi trưởng thành (xem, ví dụ, tài liệu 63 và tài liệu 64). Báo cáo này đề xuất rằng Fc gama RIIb ngăn ngừa tích cực sự trưởng thành của các tế bào đuôi gai ở trạng thái ổn định mà trạng thái đó không xảy ra viêm hoặc triệu chứng tương tự và không xảy ra sự hoạt hóa. Fc gama RIIa được biểu hiện trên bề mặt tế bào đuôi gai bổ sung cho Fc gama RIIb, do đó, ngay cả khi việc gắn kết với Fc gama RIIb ức chế được tăng cường và việc gắn kết với Fc gama R hoạt hóa như Fc gama RIIa cũng được tăng cường, thì kết quả là sự trưởng thành của các tế bào đuôi gai có thể được đẩy mạnh. Cụ thể hơn, việc cải thiện không chỉ về hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb mà còn về tỷ lệ của hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb tương

ứng với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa cũng là quan trọng khi cung cấp các kháng thể với hoạt động ức chế miễn dịch.

Do đó, khi xem xét để tạo ra dược phẩm mà sử dụng sự gắn kết hoạt động ức chế miễn dịch thông qua Fc gama RIIb, có một nhu cầu về biến thể Fc mà không chỉ có hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, mà còn gắn kết cả với các kiểu quyết định kháng nguyên Fc gama RIIa kiểu H và R, đồng thời chúng vẫn duy trì ở mức tương đương hoặc yếu hơn so với mức thấp hơn của IgG1 xuất hiện trong tự nhiên.

Trong khi đó, các trường hợp mà các sự thay đổi axit amin được đưa vào trong vùng Fc để tăng cường tính chọn lọc gắn kết Fc gama RIIb cũng đã được báo cáo (xem, ví dụ, tài liệu 65). Tuy nhiên, tất cả các biến thể được đề cập đến để có tính chọn lọc Fc gama RIIb được cải thiện như được báo cáo trong tài liệu này cho thấy có sự gắn kết Fc gama RIIb giảm so với sự gắn kết của IgG1 xuất hiện trong tự nhiên. Do đó, điều này được coi là khó khăn đối với các biến thể này để chúng thực sự gây ra phản ứng ức chế miễn dịch thông qua Fc gama RIIb mạnh hơn IgG1.

Hơn thế nữa, do Fc gama RIIb đóng vai trò quan trọng trong các kháng thể chủ vận nêu trên đây, nên việc nâng cao hoạt tính gắn kết của chúng được mong đợi để tăng cường hoạt tính chủ vận. Tuy nhiên, khi Fc gama RIIa gắn kết được tăng cường tương đương, thì các hoạt động không được định hướng trước như hoạt tính của ADCC và hoạt tính của ADCP sẽ được biểu hiện, và điều này có thể gây ra các tác dụng phụ. Cũng từ quan điểm này, thích hợp là để có thể tăng cường tuyển chọn hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb.

Từ các kết quả này, khi sản xuất các kháng thể điều trị để sử dụng đối với việc điều trị các bệnh tự miễn và bệnh ung thư đang sử dụng Fc gama RIIb, thì điều quan trọng là khi so với hoạt tính của IgG xuất hiện trong tự nhiên, thì vẫn phải duy trì hoặc giảm được hoạt tính gắn kết với cả các kiểu quyết định kháng nguyên Fc gama RIIa, và tăng cường được sự gắn kết Fc gama RIIb. Tuy nhiên,

Fc gama RIIb chia sẻ tới 93% độ tương đồng trong vùng ngoại bào so với Fc gama RIIa mà là một trong các Fc gama R hoạt hóa, và do đó chúng có cấu trúc rất giống nhau. Có các kiểu quyết định kháng nguyên của Fc gama RIIa, kiểu H và kiểu R, trong đó axit amin tại vị trí 131 là His (kiểu H) hoặc Arg (kiểu R), nhưng các kiểu này lại phản ứng khác nhau với kháng thể (xem, ví dụ, tài liệu 66). Do đó, vấn đề khó khăn là làm sao tạo ra biến thể vùng Fc mà có sự gắn kết Fc gama RIIb chọn lọc được tăng cường khi so với mỗi kiểu quyết định kháng nguyên của Fc gama RIIa, nhưng vẫn có các trình tự với độ tương đồng có thể phân biệt được cao giữa Fc gama RIIa và Fc gama RIIb. Mặc dù có khó khăn, nhưng đã có một số biến thể vùng Fc đã được nhận dạng, mà có hoạt tính liên kết có chọn lọc với Fc gama RIIb khi so với Fc gama RIIa, bằng cách tiến hành phân tích toàn bộ cải biến axit amin trong vùng Fc (xem, ví dụ, tài liệu patent 16, tài liệu patent 17, tài liệu patent 18, tài liệu patent 19 và tài liệu patent 20).

Đã có báo cáo về một biến thể vùng Fc với tính chọn lọc gắn kết đối với Fc gama RIIb liên quan đến Fc gama R người tới một mức độ nhất định, trong khi chưa từng có báo cáo về vùng biến thể Fc với tính chọn lọc gắn kết đối với Fc gama RIIb liên quan đến Fc gama R của khỉ. Do thiếu biến thể Fc này, nên hiệu quả của việc sự liên kết có chọn lọc Fc với Fc gama RIIb vẫn chưa được thử nghiệm kỹ lưỡng trên khỉ.

Ngoài những điều nêu trên, đã có báo cáo cho rằng bằng cách sửa đổi điện tích của các gốc axit amin mà có thể được lộ ra trên bề mặt của kháng thể để tăng hoặc giảm điểm đẳng điện (pI) của kháng thể, thì nó có thể điều hòa chu kỳ bán thải của kháng thể trong máu (xem, ví dụ, tài liệu patent 21 và tài liệu patent 22). Điều này cho thấy rằng nó có thể kéo dài chu kỳ bán thải huyết tương của kháng thể bằng cách giảm pI của kháng thể và ngược lại.

Hơn nữa, đã có báo cáo rằng sự hợp nhất của kháng nguyên vào trong các tế bào có thể được thúc đẩy bằng cách sửa đổi điện tích của các gốc axit amin đặc biệt, cụ thể là trong miền CH3 của nó để tăng cường pI của kháng thể (xem, ví dụ, tài liệu patent 23). Ngoài ra, đã có báo cáo rằng việc sửa đổi điện tích của các gốc

axit amin trong vùng ổn định (chủ yếu là miền CH1) của kháng thể để giảm pI có thể kéo dài chu kỳ bán thải của kháng thể trong huyết tương (xem, ví dụ, tài liệu patent 24).

Danh mục tài liệu trích dẫn

Tài liệu patent:

Tài liệu patent 1: patent Hoa Kỳ số 5,827,733

Tài liệu patent 2: WO 1994/021681

Tài liệu patent 3: Patent Hoa Kỳ số 6,096,506

Tài liệu patent 4: Patent Hoa Kỳ số 7,261,893

Tài liệu patent 5: Patent Hoa Kỳ số 7,320,789

Tài liệu patent 6: Patent Hoa Kỳ số 7,807,159

Tài liệu patent 7: Patent Hoa Kỳ số 7,888,486

Tài liệu patent 8: WO 2005/094446

Tài liệu patent 9: WO 2007/047112

Tài liệu patent 10: WO 2010/070094

Tài liệu patent 11: WO 2000/042072

Tài liệu patent 12: WO 2006/019447

Tài liệu patent 13: WO 2004/099249

Tài liệu patent 14: WO 2004/029207

Tài liệu patent 15: Công bố đơn US2009/0136485

Tài liệu patent 16: WO 2012/115241

Tài liệu patent 17: WO 2013/047752

Tài liệu patent 18: WO 2013/125667

Tài liệu patent 19: WO 2014/030728

Tài liệu patent 20: WO 2014/163101

Tài liệu patent 21: WO 2007/114319

Tài liệu patent 22: WO 2009/041643

Tài liệu patent 23: WO 2014/145159

Tài liệu patent 24: WO 2012/016227

Tài liệu khác:

Tài liệu 1: Kingsley et al., Genes Dev. 8(2):133-146 (1994)

Tài liệu 2: Hoodless et al., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 228:235-272 (1998)

Tài liệu 3: Zimmers et al., Science 296(5572):1486-1488 (2002)

Tài liệu 4: McPherron et al., Nature 387(6628):83-90 (1997)

Tài liệu 5: McPherron and Lee, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94(23):12457-12461 (1997)

Tài liệu 6: Szlama et al., FEBS J 280(16):3822-3839 (2013)

Tài liệu 7: Lee, PloS One 3(2):e1628 (2008)

Tài liệu 8: Lee, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98(16):9306-9311 (2001)

Tài liệu 9: McCroskery et al., J Cell Sci. 118(15):3531-3541 (2005)

Tài liệu 10: Whittemore et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 300(4):965-971 (2003)

Tài liệu 11: Bogdanovich et al., Nature 420(6914):418-421 (2002)

Tài liệu 12: Wagner., Ann. Neurol. 52(6):832-836 (2002)

Tài liệu 13: Reichert et al., Nat. Biotechnol. 23:1073-1078 (2005)

Tài liệu 14: Pavlou et al., Eur. J. Pharm. Biopharm. 59:389-396 (2005)

Tài liệu 15: Clark et al., Chem. Immunol. 65:88-110 (1997)

Tài liệu 16: Jefferis et al., Immunol. Lett. 82:57-65 (2002)

Tài liệu 17: Smith et al., Nat. Rev. Immunol. 10:328-343 (2010)

Tài liệu 18: Radaev et al., J. Biol. Chem. 276:16478-16483 (2001)

Tài liệu 19: Greenwood et al., Eur. J. Immunol. 23:1098-1104 (1993)

Tài liệu 20: Morgan et al., Immunology 86:319-324 (1995)

Tài liệu 21: Nimmerjahn et al., Nat. Rev. Immunol. 8:34-47 (2008)

Tài liệu 22: Amigorena et al., Eur. J. Immunol. 19:1379-1385 (1989)

Tài liệu 23: Sinclair, J. Exp. Med. 129:1183-1201 (1969)

Tài liệu 24: Heyman, Immunol. Lett. 88:157-161 (2003)

Tài liệu 25: Amigorena et al., Science 256:1808-1812 (1992)

Tài liệu 26: Muta et al., Nature 368:70-73 (1994)

Tài liệu 27: Ravetch, Science 290:84-89 (2000)

Tài liệu 28: Fournier et al., J. Immunol. 181:5350-5359 (2008)

Tài liệu 29: J.Immunol. 163:618-622 (1999)

Tài liệu 30: Yuasa et al., J. Exp. Med. 189:187-194 (1999)

Tài liệu 31: Nakamura et al., J. Exp. Med. 191:899-906 (2000)

Tài liệu 32: Blank, Hum. Genet. 117:220-227 (2005)

Tài liệu 33: Olferiev et al., J. Biol. Chem. 282:1738-1746 (2007)

Tài liệu 34: Chen et al., Arthritis Rheum. 54:3908-3917 (2006)

Tài liệu 35: Floto et al., Nat. Med. 11:1056-1058 (2005)

Tài liệu 36: Li et al., J. Immunol. 176:5321-5328 (2006)

Tài liệu 37: Mackay et al., J. Exp. Med. 203:2157-2164 (2006)

Tài liệu 38: Yang et al., J. Immunol. 178:3272-3280 (2007)

Tài liệu 39: Bruhns et al., Blood 113:3716-3725 (2009)

Tài liệu 40: Chu et al., Mol. Immunol. 45:3926-3933 (2008)

Tài liệu 41: Chu et al., J. Allergy Clin. Immunol. 129:1102-1115 (2012)

Tài liệu 42: Veri et al., Arthritis Rheum. 62:1933-1943 (2010)

Tài liệu 43: Cemerski et al., Immunol. Lett. 143:34-43 (2012)

Tài liệu 44: Wenink et al., J. Immunol. 183:4509-4520 (2009)

Tài liệu 45: Zhang et al., J. Immunol. 182:554-562 (2009)

Tài liệu 46: Ravetch, Science 333:1030-1034 (2011)

Tài liệu 47: Wilson et al., Cancer Cell 19:101-113 (2011)

Tài liệu 48: Kohrt et al., J. Clin. Invest. 122:1066-1075 (2012)

Tài liệu 49: Xu et al., J. Immunol. 171:562-568 (2003)

Tài liệu 50: Zhang et al., Blood 108:705-710 (2006)

Tài liệu 51: Chuntharapai et al., J. Immunol. 166:4891-4898 (2001)

Tài liệu 52: Ravetch et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109:10966-10971 (2012)

Tài liệu 53: Malbec et al., Immunol. Lett. 143:28-33 (2012)

Tài liệu 54: Scappaticci et al., J. Natl. Cancer. Inst. 99:1232-1239 (2007)

Tài liệu 55: Arthritis Rheum. 48:719-727 (2003)

Tài liệu 56: Meyer et al., J. Thromb. Haemost. 7:171-181 (2008)

Tài liệu 57: Robles-Carrillo et al., J. Immunol. 185:1577-1583 (2010)

Tài liệu 58: Duffau et al., Sci. Transl. Med. 2:47ra63 (2010)

Tài liệu 59: Richards et al, Mol. Cancer Ther. 7:2517-2527 (2008)

Tài liệu 60: Desai et al., J. Immunol. 178:6217-6226 (2007)

Tài liệu 61: Salmon et al., J. Clin. Invest. 97:1348-1354 (1996)

Tài liệu 62: Manger et al., Arthritis Rheum. 41:1181-1189 (1998)

Tài liệu 63: Boruchov et al., J. Clin. Invest. 115:2914-2923 (2005)

Tài liệu 64: Dhodapkar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:2910-2915 (2005)

Tài liệu 65: Armour et al., Mol. Immunol. 40:585-593 (2003)

Tài liệu 66: Warmerdam et al., J. Exp. Med. 172:19-25 (1990)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là cung cấp các kháng thể kháng myostatin, các polypeptit chứa các vùng Fc biến đổi, và các phương pháp sử dụng chúng.

Giải quyết vấn đề

Sáng chế đề cập đến các kháng thể kháng myostatin và các phương pháp sử dụng chúng. Sáng chế cũng đề cập đến các protein chứa vùng Fc biến đổi và các phương pháp sử dụng chúng.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế gắn kết với myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với epitop trong một mảnh bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế ức chế sự hoạt hóa của myostatin. Theo các phương án nữa, kháng thể này phong bế sự giải phóng myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án nữa, kháng thể này ngăn ngừa sự giải phóng protein phân giải của myostatin trưởng thành. Theo các phương án nữa, kháng thể phong bế sự giải phóng tự phát của myostatin trưởng thành. Theo các phương án nữa, kháng thể này không gắn kết với myostatin trưởng thành. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 13. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như một kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 13. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo các

phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như một kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 11a. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như một kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 11a. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13. Theo các phương án nữa, kháng thể này gắn kết với cùng epitop như một kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH trung tính lớn hơn so với ái lực ở pH có tính axit. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế gắn kết với một phần polypeptit bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78) với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo một số phương án, kháng thể này gắn kết với cùng epitop myostatin như kháng thể được mô tả ở Bảng 13 với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 13 với ái lực cao ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 13 với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo một số phương án, kháng thể này gắn kết với cùng epitop myostatin như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit. Theo một số phương án, kháng thể gắn kết với cùng epitop myostatin như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 11a với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở

pH có tính axit. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop myostatin như kháng thể được mô tả ở Bảng 11a với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 11a với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13 với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop myostatin như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13 với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13 với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể được đề cập theo sáng chế. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể được mô tả ở Bảng 13. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 13. Theo một số phương án, kháng thể cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a. Theo một số phương án, kháng thể cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với một kháng thể được mô tả ở Bảng 11a. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 11a. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13. Theo các phương

án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với một phần polypeptit bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78) với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Các phương pháp đánh giá khả năng của kháng thể cạnh tranh với một kháng thể liên quan để gắn kết myostatin tiềm ẩn được mô tả theo sáng chế là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là kháng thể đơn dòng. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là kháng thể khảm, của người hoặc được làm tương thích với người. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là mảnh kháng thể gắn kết với myostatin. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là mảnh kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là mảnh kháng thể gắn kết với một mảnh polypeptit bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế là kháng thể IgG có chiều dài toàn vẹn.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế bao gồm:

(a) (i) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin $GVPAX_1SX_2GGDX_3$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128), (ii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin $AGGYGGGX_1YA$, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131), và (iii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin $IISX_1AGX_2X_3YX_4X_5X_6WAKX_7$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127);

(b) (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2DIS, trong đó X_1 là S hoặc H, X_2 là Y, T, D hoặc E (SEQ ID NO: 126), (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin IISX_1AGX_2X_3Y$X_4X_5X_6$WAKX_7, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127), và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin GVPAX_1SX_2GGDX_3, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128);

(c) (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2DIS, trong đó X_1 là S hoặc H, X_2 là Y, T, D hoặc E (SEQ ID NO: 126), (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin IISX_1AGX_2X_3Y$X_4X_5X_6$WAKX_7, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127), (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin GVPAX_1SX_2GGDX_3, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128), (iv) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2SQX_3V$X_4X_5X_6$NWLS, trong đó X_1 là Q hoặc T, X_2 là S hoặc T, X_3 là S hoặc E, X_4 là Y hoặc F, X_5 là D hoặc H, X_6 là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129); (v) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX_1TLAX_2, trong đó X_1 là S hoặc E, X_2 là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130); và (vi) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin AGGYGGGX_1YA, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131);

(d) (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2SQX_3V$X_4X_5X_6$NWLS, trong đó X_1 là Q hoặc T, X_2 là S hoặc T, X_3 là S hoặc E, X_4 là Y hoặc F, X_5 là D hoặc H, X_6 là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129); (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX_1TLAX_2, trong đó X_1 là S hoặc E, X_2 là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130); và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin AGGYGGGX_1YA, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131). Theo một số phương án kháng thể của (b) còn bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nặng FR1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 132-134; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 135-136; FR3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138. Theo

một số phương án, kháng thể của (d), còn bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nhẹ FR1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 140-141; FR3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 142-143; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm (a) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin $GVPAX_1SX_2GGDX_3$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128), (b) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin $AGGYGGGX_1YA$, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131), và (c) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin $IISX_1AGX_2X_3YX_4X_5X_6WAKX_7$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127).

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2DIS, trong đó X_1 là S hoặc H, X_2 là Y, T, D hoặc E (SEQ ID NO: 126), (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin $IISX_1AGX_2X_3YX_4X_5X_6WAKX_7$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127), và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin $GVPAX_1SX_2GGDX_3$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128). Theo các phương án nữa, kháng thể bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nặng FR1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 132-134; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 135-136; FR3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:138. Theo các phương án nữa, kháng thể này còn bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin $X_1X_2SQX_3VX_4X_5X_6NWLS$, trong đó X_1 là Q hoặc T, X_2 là S hoặc T, X_3 là S hoặc E, X_4 là Y hoặc F, X_5 là D hoặc H, X_6 là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129); (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX_1TLAX_2, trong đó X_1 là S hoặc E, X_2

là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130); và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin AGGYGGGX$_1$YA, trong đó X$_1$ là L hoặc R (SEQ ID NO: 131).

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin X$_1$X$_2$SQX$_3$VX$_4$X$_5$X$_6$NWLS, trong đó X$_1$ là Q hoặc T, X$_2$ là S hoặc T, X$_3$ là S hoặc E, X$_4$ là Y hoặc F, X$_5$ là D hoặc H, X$_6$ là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129); (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX$_1$TLAX$_2$, trong đó X$_1$ là S hoặc E, X$_2$ là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130); và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin AGGYGGGX$_1$YA, trong đó X$_1$ là L hoặc R (SEQ ID NO: 131). Theo một phương án khác nữa, kháng thể còn bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nhẹ FR1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 140-141; FR3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 142-143; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nặng FR1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 132-134; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 135-136; FR3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm khung miền biến đổi chuỗi nhẹ FR1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 140-141; FR3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 142-143; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được phân lập theo sáng chế bao gồm (a) trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 95% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95; (b) trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 95% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99; hoặc (c) trình tự VH như ở (a) và trình tự VL như ở (b). Theo các phương án nữa, kháng thể bao gồm trình tự VH bất kỳ nêu trong

SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95. Theo các phương án nữa, kháng thể bao gồm trình tự VL bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99. Theo một số phương án, kháng thể bao gồm trình tự VH bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95. Theo các phương án khác nữa, kháng thể bao gồm trình tự VH bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95; và trình tự VL bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99.

Sáng chế cũng đề cập đến các axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể kháng myostatin theo sáng chế. Sáng chế cũng đề cập đến tế bào chủ bao gồm axit nucleic theo sáng chế. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm bước cấy tế bào chủ theo sáng chế sao cho kháng thể được tạo ra.

Theo một vài khía cạnh sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể kháng myostatin, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: (a) nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế để kháng thể được sản xuất; hoặc (b) gây miễn dịch động vật kháng polypeptit, trong đó polypeptit này bao gồm vùng tương ứng với các axit amin ở các vị trí từ 21 đến 100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78).

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể kháng myostatin. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước gây miễn dịch động vật kháng polypeptit, trong đó polypeptit này bao gồm vùng tương ứng với các axit amin ở các vị trí từ 21 đến 100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78).

Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm dược bao gồm kháng thể kháng myostatin theo sáng chế và chất mang dược dụng.

Các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể được sử dụng làm dược phẩm. Theo một số phương án, kháng thể được sử dụng trong sản xuất dược phẩm để: (a) điều trị bệnh nhão cơ; (b) tăng khối lượng của mô cơ; (c) tăng độ bền của mô cơ; hoặc (d) giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Theo một số phương án, các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh nhão cơ. Các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể được sử dụng để làm tăng khối lượng của mô cơ. Các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có

thể được sử dụng để tăng độ bền của mô cơ. Các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể được sử dụng để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin được đề xuất ở đây được sử dụng trong: (a) điều trị bệnh nhão cơ; (b) tăng khối lượng của mô cơ; (c) tăng độ bền của mô cơ; hoặc (d) giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể.

Các kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể được sử dụng trong sản xuất dược phẩm. Theo một số phương án, kháng thể được sử dụng trong sản xuất dược phẩm để: (a) điều trị bệnh nhão cơ; (b) tăng khối lượng của mô cơ; (c) tăng độ bền của mô cơ; hoặc (d) giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Theo một số phương án, dược phẩm dùng để điều trị bệnh nhão cơ. Theo một số phương án, dược phẩm dùng để tăng khối lượng của mô cơ. Theo một số phương án, dược phẩm dùng để tăng độ bền của mô cơ. Theo một số phương án, dược phẩm dùng để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị một cá thể mắc bệnh nhão cơ. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin theo sáng chế. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tăng khối lượng của mô cơ ở một cá thể. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng myostatin theo sáng chế để tăng khối lượng của mô cơ. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tăng độ bền của mô cơ ở một cá thể. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin theo sáng chế để tăng độ bền của mô cơ. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể ở một cá thể. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin theo sáng chế để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến:

(1) kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc điều trị bệnh nhược cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(2) kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm tăng khối lượng mô cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(3) kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm tăng độ bền mô cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(4) kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm giảm sự tích tụ chất béo cơ thể, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(5) sử dụng kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn trong quá trình sản xuất dược phẩm dùng để điều trị bệnh nhược cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(6) sử dụng kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn trong quá trình sản xuất dược phẩm dùng để làm tăng khối lượng mô cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(7) sử dụng kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn trong quá trình sản xuất dược phẩm dùng để làm tăng độ bền mô cơ, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(8) sử dụng kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn trong quá trình sản xuất dược phẩm dùng để làm giảm sự tích tụ chất béo cơ thể, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(9) phương pháp điều trị cá thể mắc bệnh nhược cơ bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(10) phương pháp làm tăng khối lượng mô cơ ở một cá thể bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(11) phương pháp làm tăng độ bền mô cơ ở một cá thể bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(12) phương pháp làm giảm sự tích tụ chất béo cơ thể ở một cá thể bao gồm bước cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn, trong đó kháng thể này ức chế sự hoạt hóa của myostatin;

(13) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (12), trong đó kháng thể này ngăn chặn sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn;

(14) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (13), trong đó kháng thể này ngăn chặn sự giải phóng protein phân giải của myostatin trưởng thành;

(15) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (13), trong đó kháng thể này ngăn chặn sự giải phóng tự phát của myostatin trưởng thành;

(16) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (15), trong đó kháng thể này không gắn kết với myostatin trưởng thành;

(17) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (16), trong đó kháng thể này gắn kết với epitop trong một đoạn bao gồm các axit amin 21-100 của myostatin propeptit (SEQ ID NO: 78);

(18) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (17), trong đó kháng thể này gắn kết với cùng epitop như kháng thể được thể hiện ở các Bảng 2a, 11a, và 13;

(19) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (18), trong đó kháng thể này gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH trung hòa cao hơn ái lực ở pH có tính axit;

(20) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (19), trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng;

(21) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (20), trong đó kháng thể này là kháng thể người, được làm tương thích với người hoặc dạng khảm;

(22) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (21), trong đó kháng thể này là đoạn kháng thể gắn kết với myostatin;

(23) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22), trong đó kháng thể này bao gồm (a) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin $GVPAX_1SX_2GGDX_3$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128), (b) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin $AGGYGGGX_1YA$, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131), và (c) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin $IISX_1AGX_2X_3YX_4X_5X_6WAKX_7$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127);

(24) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22), trong đó kháng thể này bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin X_1X_2DIS, trong đó X_1 là S hoặc H, X_2 là Y, T, D hoặc E (SEQ ID NO: 126), (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin $IISX_1AGX_2X_3YX_4X_5X_6WAKX_7$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là S hoặc K, X_3 là T, M hoặc K, X_4 là Y hoặc K, X_5 là A, M hoặc E, X_6 là S hoặc E, X_7 là G hoặc K (SEQ ID NO: 127), và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin $GVPAX_1SX_2GGDX_3$, trong đó X_1 là Y hoặc H, X_2 là T hoặc H, X_3 là L hoặc K (SEQ ID NO: 128);

(25) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (24), trong đó kháng thể này còn bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin $X_1X_2SQX_3VX_4X_5X_6NWLS$, trong đó X_1 là Q hoặc T, X_2 là S hoặc T, X_3 là S hoặc

E, X_4 là Y hoặc F, X_5 là D hoặc H, X_6 là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129), (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX_1TLAX_2, trong đó X_1 là S hoặc E, X_2 là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130), và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin $AGGYGGGX_1YA$, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131);

(26) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22), trong đó kháng thể này bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin $X_1X_2SQX_3VX_4X_5X_6NWLS$, trong đó X_1 là Q hoặc T, X_2 là S hoặc T, X_3 là S hoặc E, X_4 là Y hoặc F, X_5 là D hoặc H, X_6 là N, D, A hoặc E (SEQ ID NO: 129), (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin WAX_1TLAX_2, trong đó X_1 là S hoặc E, X_2 là S, Y, F hoặc W (SEQ ID NO: 130), và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin $AGGYGGGX_1YA$, trong đó X_1 là L hoặc R (SEQ ID NO: 131);

(27) kháng thể để sử dụng, việc sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (24), trong đó kháng thể này còn bao gồm khung FR1 miền biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 132-134; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 135-136; FR3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138;

(28) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (26), trong đó kháng thể này còn bao gồm khung FR1 miền biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139; FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 140-141; FR3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 142-143; và FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144;

(29) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22), trong đó kháng thể này bao gồm (a) trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 95% so với trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95; (b) trình tự VL có độ tương đồng

ít nhất 95% so với trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99; hoặc (c) trình tự VH như ở (a) và trình tự VL như ở (b);

(30) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục (29), trong đó kháng thể này bao gồm trình tự VH bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95;

(31) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo (29), trong đó kháng thể này bao gồm trình tự VL bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99;

(32) kháng thể để sử dụng trong việc điều trị bệnh nhược cơ, bao gồm trình tự VH bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95 và trình tự VL bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99;

(33) kháng thể để sử dụng trong việc làm tăng khối lượng mô cơ, bao gồm trình tự VH bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95 và trình tự VL bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99;

(34) kháng thể để sử dụng trong việc làm tăng độ bền mô cơ, bao gồm trình tự VH bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95 và trình tự VL bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99;

(35) kháng thể để sử dụng trong việc làm giảm sự tích tụ chất béo cơ thể, bao gồm trình tự VH bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95 và trình tự VL bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99; và

(36) kháng thể để sử dụng, sử dụng, hoặc phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (35), trong đó kháng thể này là kháng thể IgG có chiều dài đầy đủ.

Sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi và các phương pháp tạo ra và sử dụng chúng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các polypeptit gắn kết Fc gama RIIB bao gồm các vùng Fc biến đổi và các phương pháp sử dụng chúng. Theo một số phương án, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường theo sáng chế bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin trong vùng Fc gốc. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb khỉ]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb khỉ] là 2,0 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIIa khỉ]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa khỉ] là 0,5 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb người]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb người] là 2,0 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIIa người]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa người] là 0,5 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa người (kiểu H)]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu H)] là 5,0 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án nữa, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa người (kiểu R)]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu R)] là 5,0 hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb khỉ là $1,0 \times 10^{-6}$ M hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa khỉ là $5,0 \times 10^{-7}$ M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb người là $2,0 \times 10^{-6}$ M hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa người là $1,0 \times 10^{-6}$ M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu H) là $1,0 \times 10^{-7}$ M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu R) là $2,0 \times 10^{-7}$ M hoặc lớn hơn.

Theo một số phương án, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường theo sáng chế bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: (i) vị trí 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396; (ii) vị trí: 231, 232, 235, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396; hoặc (iii) vị trí 268, 295, 326, và 330; theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 235, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396, theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 268, 295, 326, và 330 theo hệ đánh số EU.

Theo một số phương án, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường theo sáng chế bao gồm ít nhất một axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (a) Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 231; (b) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 232; (c) Asp tại vị trí 233; (d) Trp, Tyr tại vị trí 234; (e) Trp tại vị trí 235; (f) Ala, Asp, Glu, His, Ile, Leu, Met, Asn, Gln, Ser, Thr, Val tại vị trí 236; (g) Asp, Tyr tại vị trí 237; (h) Glu, Ile, Met, Gln, Tyr tại vị trí 238; (i) Ile, Leu, Asn, Pro, Val tại vị trí 239; (j) Ile tại vị trí 264; (k) Phe tại vị trí 266; (l) Ala, His, Leu tại vị trí 267; (m) Asp, Glu tại vị trí 268; (n) Asp, Glu, Gly tại vị trí 271; (o) Leu tại vị trí 295; (p) Leu tại vị trí 298; (q) Glu, Phe, Ile, Leu tại vị trí 325; (r) Thr tại vị trí 326; (s) Ile, Asn tại vị trí 327; (t) Thr tại vị trí 328; (u) Lys, Arg tại vị trí 330; (v) Glu tại vị trí 331; (w) Asp tại vị trí 332; (x) Asp, Ile, Met, Val, Tyr tại vị trí 334; và (y) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất một axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (a) Gly, Thr tại vị trí 231; (b) Asp tại vị trí 232; (c) Trp tại vị trí 235; (d) Asn, Thr tại vị trí 236; (e) Val tại vị trí 239; (f) Asp, Glu tại vị trí 268; (g) Leu tại vị trí 295; (h) Leu tại vị trí 298; (i) Thr tại vị trí 326; (j) Lys, Arg tại vị trí 330, và (k) Lys, Met tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi tăng điểm đẳng điện (pI) và phương pháp sử dụng chúng. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI tăng bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin trong vùng Fc gốc. Theo các phương án nữa, mỗi sự biến đổi axit amin tăng điểm đẳng điện (pI) của vùng Fc biến đổi so với điểm đẳng điện của vùng Fc gốc. Theo các phương án nữa, axit amin có thể được lộ ra trên bề mặt của vùng Fc biến đổi. Theo các phương án nữa, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi và miền gắn kết kháng nguyên. Theo các phương án nữa, hoạt tính gắn kết kháng

nguyên của miền gắn kết kháng nguyên thay đổi theo các trạng thái nồng độ ion. Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường theo sáng chế bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 285, 311, 312, 315, 318, 333, 335, 337, 341, 342, 343, 384, 385, 388, 390, 399, 400, 401, 402, 413, 420, 422, và 431 theo hệ đánh số EU. Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường bao gồm Arg hoặc Lys ở mỗi vị trí được chọn.

Theo một số phương án, vùng Fc biến đổi theo sáng chế bao gồm các sự biến đổi axit amin được mô tả ở các Bảng 14-30.

Theo một số phương án, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế. Theo các phương án nữa, vùng Fc gốc có nguồn gốc từ IgG1 người. Theo các phương án nữa, polypeptit là kháng thể. Theo các phương án nữa, polypeptpit là protein dung hợp Fc.

Sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 229-381.

Sáng chế cũng đề cập đến axit nucleic được phân lập mã hóa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế. Sáng chế cũng đề cập đến tế bào chủ bao gồm axit nucleic theo sáng chế. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi bao gồm việc cấy vật chủ theo sáng chế để polypeptit được sản xuất.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế và chất mang dược dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 minh họa sự ức chế sự hoạt hóa phân giải protein của myostatin tiềm ẩn bởi kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 3. Hoạt tính của sự hoạt hóa myostatin được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bởi proteaza

BMP1 được xác định trong điều kiện có mặt của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue.

Fig. 2 minh họa sự ức chế của sự hoạt hóa tự phát của myostatin tiềm ẩn bởi kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 4. Hoạt tính của sự hoạt hóa myostatin được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bằng cách ủ ở 37 °C được đo trong điều kiện có mặt của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue.

Fig. 3 minh họa sự gắn kết của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn với miền propeptit, như được mô tả trong Ví dụ 5.

Fig. 4 minh họa phân tích thẩm tách Western kháng propeptit myostatin, như được mô tả trong Ví dụ 6. Sự chia tách phân giải protein của propeptit myostatin bởi BMP1 được đánh giá trong điều kiện có hoặc không có mặt kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn.

Fig. 5A-Fig. 5C minh họa các cảm biến sensorgram BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn MST1032-G1m theo myostatin tiềm ẩn của người (A), myostatin tiềm ẩn của khỉ xynomolgus (B), và myostatin tiềm ẩn của chuột (C), như được mô tả trong Ví dụ 7.

Fig. 6A minh họa hiệu quả *in vivo* của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và kháng thể kháng myostatin trưởng thành trên khối lượng cơ và khối lượng mỡ, như được mô tả trong Ví dụ 8. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin trưởng thành (41C1E4) được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng nạc toàn thân (hoặc khối lượng cơ thể nạc: LBM) được xác định.

Fig. 6B minh họa hiệu quả *in vivo* của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và kháng thể kháng myostatin trưởng thành trên khối lượng cơ và khối lượng mỡ, như được mô tả trong Ví dụ 8. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin

trưởng thành (41C1E4) đã được sử dụng cho chuột SCID, và sự thay đổi của khối lượng mỡ toàn cơ thể từ Ngày 0 đến Ngày 14 được xác định.

Fig. 6C minh họa hiệu quả *in vivo* của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và kháng thể kháng myostatin trưởng thành trên khối lượng cơ và khối lượng mỡ, như được mô tả trong Ví dụ 8. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin trưởng thành (41C1E4) được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng cơ bụng chân và cơ tứ đầu được xác định.

Fig. 7A minh họa sự so sánh hiệu quả *in vivo* giữa một số kháng thể kháng myostatin, như được mô tả trong Ví dụ 9. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin trưởng thành (41C1E4, REGN, OGD, hoặc MYO-029) được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng nạc toàn thân được xác định.

Fig. 7B minh họa sự so sánh hiệu quả *in vivo* giữa một số kháng thể kháng myostatin, như được mô tả trong Ví dụ 9. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin trưởng thành (41C1E4, REGN, OGD, hoặc MYO-029) được sử dụng cho chuột SCID, và lực nắm được được xác định.

Fig. 7C minh họa sự so sánh hiệu quả *in vivo* giữa một số kháng thể kháng myostatin, như được mô tả trong Ví dụ 9. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032-G1m; được mô tả là MST1032 trong các hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin trưởng thành (41C1E4, REGN, OGD, hoặc MYO-029) được sử dụng cho chuột SCID, và sự thay đổi của khối lượng mỡ toàn cơ thể từ Ngày 0 đến Ngày 14 được xác định.

Fig. 8 minh họa sự ức chế sự hoạt hóa phân giải protein và sự hoạt hóa tự phát của myostatin tiềm ẩn bởi kháng thể được làm tương thích với người kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 10. Hoạt tính của myostatin hoạt hóa được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bởi proteaza BMP1 (phân giải protein)

hoặc bằng cách ủ 37 °C trong điều kiện không có mặt BMP1 (tự phát) được xác định trong điều kiện có mặt của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue.

Fig. 9 minh họa các cảm biến sensorgram BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) của các biến thể của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được thế histidin, như được mô tả trong Ví dụ 11. Các phức hợp kháng thể/kháng nguyên được cho phép phân tách ở pH 7,4, tiếp đó phân ly bổ sung ở pH 5,8 (được chỉ ra bởi mũi tên) để đánh giá các tương tác phụ thuộc pH. Các kháng thể được thử nghiệm trong thử nghiệm này là: Ab001 (đường cong nét liền màu đen), Ab002 (đường cong nét đứt ngắn màu đen), Ab003 (đường cong chấm đen), Ab004 (đường cong nét đứt ngắn màu xám), Ab005 (đường cong nét liền màu xám), Ab006 (đường cong nét đứt dài màu xám), và Ab007 (đường cong nét đứt ngắn màu đen).

Fig. 10 minh họa sự ức chế sự hoạt hóa protein phân giải và sự hoạt hóa tự phát của myostatin tiềm ẩn bởi các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH, như được mô tả trong Ví dụ 13. Hoạt tính của sự hoạt hóa myostatin được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bởi proteaza BMP1 (phân giải protein) hoặc bằng cách ủ 37 °C trong điều kiện không có BMP1 (tự phát) được đo với sự có mặt của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue. Các kháng thể MS1032LO01-SG1, MS1032LO02-SG1, MS1032LO03-SG1, và MS1032LO04-SG1 được mô tả tương ứng như MSLO-01, MSLO-02, MSLO-03, và MSLO-04 trên hình. Sự ức chế tương đương của protein phân giải và sự hoạt hóa tự phát của myostatin tiềm ẩn cho MS1032LO00-SG1 đã đạt được bằng MS1032LO01-SG1, MS1032LO02-SG1, MS1032LO03-SG1, và MS1032LO04-SG1.

Fig. 11A-Fig. 11F minh họa các cảm biến sensorgram BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH, như được mô tả trong Ví dụ 14. Các thông số động lực của MST1032-SG1 (A), MS1032LO00-SG1 (B), MS1032LO01-SG1 (C), MS1032LO02-SG1 (D),

MS1032LO03-SG1 (E), và MS1032LO04-SG1 (F), được đo ở pH trung tính và pH có tính axit.

Fig. 12 minh họa tiến trình thời gian của nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin vào tĩnh mạch của chuột, như được mô tả trong Ví dụ 15. Các hiệu quả về sự hấp thu tế bào thông qua Fc gama R của các phức hợp kháng thể/kháng nguyên đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh các kháng thể kháng myostatin với gắn kết Fc gama R (MS1032LO00-SG1) với các kháng thể kháng myostatin với gắn kết Fc gama R đã bị loại bỏ (MS1032LO00-F760).

Fig. 13 minh họa tiến trình thời gian của nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin vào tĩnh mạch ở chuột, như được mô tả trong Ví dụ 16. Hiệu quả của sự gắn kết phụ thuộc pH của kháng thể kháng myostatin đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh kháng thể phụ thuộc pH kháng myostatin (MS1032LO01-SG1 hoặc MS1032LO01-F760) với kháng thể không phụ thuộc pH kháng myostatin (MS1032LO00-SG1 hoặc MS1032LO00-F760).

Các Fig. 14A-14E minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH và không phụ thuộc pH, như được mô tả trong Ví dụ 17. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH (MS1032LO01-SG1; được mô tả là MSLO1 trong hình vẽ) hoặc kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1; được mô tả là MSLO0 trong hình vẽ) được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng nạc toàn thân (A), khối lượng mỡ toàn cơ thể (B), khối lượng cơ tứ đầu (C), khối lượng cơ bụng chân (D), và lực nắm (E) được xác định.

Fig. 15 minh họa hoạt tính gắn kết của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn MST1032 với myostatin tiềm ẩn và GDF11, như được mô tả trong Ví dụ 19.

Fig. 16 minh họa hoạt tính ức chế của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn MST1032 kháng protein phân giải và sự hoạt hóa tự phát của GDF11, như được

mô tả trong Ví dụ 20. Hoạt tính của GDF11 hoạt hóa được giải phóng bằng proteaza BMP1 (protein phân giải) hoặc bằng cách ủ ở 37 °C trong điều kiện không có BMP1 (tự phát) được đo trong điều kiện có mặt của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue.

Fig. 17 minh họa sự ức chế sự hoạt hóa phân giải protein của myostatin tiềm ẩn bởi kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 22. Hoạt tính của sự hoạt hóa myostatin được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bằng proteaza BMP1 được đo trong điều kiện có mặt của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, sử dụng phương pháp phân tích HEK Blue.

Fig. 18 minh họa tiến trình thời gian của nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn vào tĩnh mạch của chuột, như được mô tả trong Ví dụ 23. Hiệu quả của sự phụ thuộc pH đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH khác (MS1032LO01-SG1, MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1 và MS1032LO25-SG1).

Fig. 19A và Fig. 19B minh họa tiến trình thời gian của nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn vào tĩnh mạch khỉ xynomolgus, như được mô tả trong Ví dụ 24. (A) Ảnh hưởng của sự phụ thuộc pH và kỹ thuật Fc đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH với kỹ thuật Fc (MS1032LO06-SG1012, MS1032LO06-SG1016, MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031, MS1032LO06-SG1033, MS1032LO06-SG1034). (B) Ảnh hưởng của kỹ thuật Fc đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081, và MS1032LO19-SG1077).

Fig. 20A, cùng với các Fig. 20B-20I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, và MS1032LO18-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng cơ thể nạc (A) được xác định.

Fig. 20B, cùng với các Fig. 20A, 20C-20I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO19-SG1, và MS1032LO25-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng cơ thể nạc (B) được xác định.

Fig. 20C, cùng với các Fig. 20A-B, 20D-I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO01-SG, MS1032LO06-SG1, và MS1032LO11-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng cơ thể nạc (C) được xác định.

Fig. 20D, cùng với các Fig. 20A-C, 20E-I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, và MS1032LO18-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và lực nắm (D) được xác định.

Fig. 20E, cùng với các Fig. 20A-D, 20F-20I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO19-SG1, và MS1032LO25-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và lực nắm (E) được xác định.

Fig. 20F, cùng với các Fig. 20A-E, 20G-I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25.

MS1032LO01-SG, MS1032LO06-SG1, và MS1032LO11-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và lực nắm (F) được xác định.

Fig. 20G, cùng với các Fig. 20A-F, 20H-I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, và MS1032LO18-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng mỡ cơ thể (G) được xác định.

Fig. 20H, cùng với các Fig. 20A-G, 20I, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO06-SG1, MS1032LO19-SG1, và MS1032LO25-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng mỡ cơ thể (H) được xác định.

Fig. 20I, cùng với các Fig. 20A-H, minh họa hiệu quả *in vivo* của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (các biến thể MS1032) trên khối lượng cơ thể nạc (LBM), lực nắm, và khối lượng mỡ cơ thể, như được mô tả trong Ví dụ 25. MS1032LO01-SG, MS1032LO06-SG1, và MS1032LO11-SG1 được sử dụng cho chuột SCID, và khối lượng mỡ cơ thể (I) được xác định.

Fig. 21 minh họa hoạt tính ức chế lên sự hoạt hóa myostatin tiềm ẩn bằng các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 26. Lượng myostatin trưởng thành được giải phóng từ myostatin tiềm ẩn bằng proteaza BMP1 được xác định trong điềukiện có mặt của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032, MST1504, MST1538, MST1551, MST1558, MST1572, và MST1573).

Fig. 22A minh họa biểu đồ từng mảnh 100 axit amin của myostatin tiềm ẩn, được thiết kế để lập bản đồ epitop của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, như được mô tả trong Ví dụ 26.

Fig. 22B minh họa phân tích thẩm tách Western kháng các mảnh myostatin đích GST tiềm ẩn người (GST-hMSTN) bởi kháng thể kháng GST, như được mô

tả trong Ví dụ 26. Mỗi làn biểu thị: 1, GST-hMSTN 1-100aa; 2, GST-hMSTN 21-120aa; 3, GST-hMSTN 41-140aa; 4, GST-hMSTN 61-160aa; 5, GST-hMSTN 81-180aa; 6, GST-hMSTN 101-200aa; 7, GST-hMSTN 121-220aa; 8, GST-hMSTN 141-241aa; 9, đối chứng GST.

Fig. 22C minh họa phân tích thẩm tách Western kháng các mảnh myostatin đích GST tiềm ẩn người (GST-hMSTN) bằng các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032, MST1538, MST1572, và MST1573), như được mô tả trong Ví dụ 26. Mỗi làn biểu thị: 1, GST-hMSTN 1-100aa; 2, GST-hMSTN 21-120aa; 3, GST-hMSTN 41-140aa; 4, GST-hMSTN 61-160aa; 5, GST-hMSTN 81-180aa; 6, GST-hMSTN 101-200aa; 7, GST-hMSTN 121-220aa; 8, GST-hMSTN 141-241aa; 9, đối chứng GST; 10, myostatin tiềm ẩn người (100ng).

Fig. 22D minh họa tóm tắt kết quả phân tích thẩm tách Western và các vị trí epitop suy diễn đối với các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032, MST1538, MST1572, và MST1573), như được mô tả trong Ví dụ 26.

Fig. 23 minh họa sự liên kết của các trình tự axit amin của xynomolgus (xyno) Fc gama RIIa1, Fc gama RIIa2, Fc gama RIIa3, Fc gama RIIb, Fc gama RIIaH người, Fc gama RIIaR, và Fc gama RIIb. Các vùng hình vuông biểu thị các gốc giả định mà tương tác với miền Fc.

Fig. 24 minh họa tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin vào tĩnh mạch với một biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb trong tất cả chuột chuyển gen Fc gama R người, như được mô tả trong Ví dụ 28. Tác động của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb đối với quá trình đào thảo kháng nguyên thông qua Fc gama RIIb người được đánh giá.

Fig. 25 minh họa tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với một biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb ở tất cả chuột chuyển gen Fc gama R người, như

được mô tả trong Ví dụ 28. Tác động của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb lên dược động học kháng thể được đánh giá.

Các Fig. 26A và 26B minh họa tiến trình thời gian của nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở khỉ xynomolgus, như được mô tả trong Ví dụ 29. (A) Ảnh hưởng của sự phụ thuộc pH và kỹ thuật Fc đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH với kỹ thuật Fc (MS1032LO06-SG1012, MS1032LO06-SG1016, MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031, MS1032LO06-SG1033, MS1032LO06-SG1034). (B) Ảnh hưởng của kỹ thuật Fc đối với sự đào thải myostatin *in vivo* được đánh giá bằng cách so sánh các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081, và MS1032LO19-SG1077).

Fig. 27A minh họa tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường pI ở chuột chuyển gen FcRn người, như được mô tả trong Ví dụ 30. Tác động của các biến thể Fc pI đã tăng cường đối với quá trình đào thải kháng nguyên được đánh giá.

Fig. 27B minh họa tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường pI ở chuột chuyển gen FcRn người, như được mô tả trong Ví dụ 30. Tác động của các biến thể Fc pI đã tăng cường đối với dược động học kháng thể được đánh giá.

Fig. 28A minh họa tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường pI ở chuột chuyển gen FcRn người, như được mô tả trong Ví dụ 30. Tác động của các biến thể Fc pI đã tăng cường đối với sự đào thải kháng

nguyên được đánh giá. Trong thử nghiệm này, một lượng dư của immunogloblin bình thường của người được đồng cung cấp với kháng thể kháng myostatin để bắt chước trạng thái của huyết tương người.

Fig. 28B minh họa tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường pI ở chuột chuyển gen FcRn người, như được mô tả trong Ví dụ 30. Hiệu quả của các biến thể Fc pI đã tăng cường đối với dược động học kháng thể được đánh giá. Trong thử nghiệm này, một lượng dư của immunogloblin bình thường người được đồng cung cấp với kháng thể kháng myostatin để bắt chước trạng thái của huyết tương người.

Fig. 29 minh họa tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb ở chuột chuyển gen Fc gama RIIb người, như được mô tả trong Ví dụ 31. Tác động của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb đối với sự đào thải kháng nguyên thông qua Fc gama RIIb người được đánh giá.

Fig. 30 minh họa tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp vào tĩnh mạch kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb ở chuột chuyển gen Fc gama RIIb người, như được mô tả trong Ví dụ 31. Tác động của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb đối với dược động học kháng thể được đánh giá.

Fig. 31 minh họa các kết quả của phân tích hình ảnh tế bào của các kháng thể kháng myostatin với biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb, như được mô tả trong Ví dụ 33. Mỗi kháng thể được phức hợp với Myostatin được gắn huỳnh quang và sự hấp thu nội bào của phức hợp kháng nguyên-kháng thể trong các tế bào biểu hiện Fc gama RIIb người được xác định.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các kỹ thuật và các quy trình được mô tả hoặc được đề cập ở đây nhìn chung được hiểu rõ và được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp chung đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như, ví dụ, các phương pháp được sử dụng rộng rãi đã được mô tả ở Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al., eds., (2003)); loạt tài liệu Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); and Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

I. Các định nghĩa

Trừ khi có quy định khác, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng ở đây có cùng ý nghĩa theo cách hiểu chung bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật liên quan đến sáng chế. Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), and March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992), cung cấp đầy đủ cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này với hướng dẫn chung cho nhiều thuật ngữ được sử dụng trong sáng chế. Tất cả các tài liệu tham khảo ở đây, bao gồm các đơn và các công bố patent, được kết hợp bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Nhằm mục đích về việc biên dịch bản mô tả, các định nghĩa sau sẽ thích hợp và bất cứ khi nào thích hợp, các thuật ngữ được sử dụng ở dạng số ít cũng sẽ bao gồm cả dạng số nhiều và ngược lại. Cần được hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng theo sáng chế nhằm để mô tả các phương án cụ thể, chứ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế. Trong trường hợp mà định nghĩa bất kỳ được trình bày dưới đây mâu thuẫn với tài liệu bất kỳ được hợp nhất ở đây bằng cách viện dẫn, thì sẽ tuân theo định nghĩa được đề cập ở đây.

"Khung tiếp nhận của người" đối với các mục đích ở đây là khung bao gồm trình tự axit amin của khung chuỗi nhẹ miền biến đổi (VL) hoặc khung chuỗi nặng miền biến đổi (VH) có nguồn gốc từ khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người, như được xác định dưới đây. Khung tiếp nhận của người "có nguồn gốc từ" khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người có thể bao gồm trình tự axit amin tương đồng, hoặc nó có thể chứa trình tự axit amin thay đổi. Theo một số phương án, số axit amin thay đổi là 10 hoặc ít hơn, 9 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 7 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 5 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, 3 hoặc ít hơn, hoặc 2 hoặc ít hơn. Theo một số phương án, khung tiếp nhận của người VL là trình tự tương đồng với trình tự khung globulin miễn dịch người VL hoặc trình tự khung liên ứng của người.

"Ái lực" đề cập đến cường độ của tổng các tương tác không hóa trị giữa một vị trí gắn kết đơn của một phân tử (ví dụ, kháng thể) với đối tác gắn kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). Trừ khi được quy định khác, theo sáng chế, "ái lực gắn kết" đề cập đến ái lực gắn kết cơ bản phản ánh sự tương tác 1:1 giữa các thành viên của cặp gắn kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên). Ái lực của phân tử X đối với đối tác Y của nó nhìn chung có thể được thể hiện bằng hằng số phân ly (Kd). Ái lực có thể được xác định bằng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các ái lực được mô tả ở đây. Sự minh họa cụ thể và các phương án được lấy làm ví dụ để đo ái lực gắn kết được mô tả dưới đây.

Kháng thể "ái lực trưởng thành" đề cập đến kháng thể có một hoặc nhiều sự biến đổi trong một hoặc nhiều các vùng siêu biến đổi (HVR), so với kháng thể thể mẹ mà không sở hữu các sự biến đổi này, các sự biến đổi này tạo ra sự cải thiện về ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên.

Các thuật ngữ "kháng thể kháng myostatin" và "kháng thể gắn kết với myostatin" đề cập đến kháng thể có khả năng gắn kết myostatin với ái lực đủ để kháng thể hữu ích như một tác nhân điều trị và/hoặc chẩn đoán về myostatin đích. Theo một phương án, mức độ gắn kết của kháng thể kháng myostatin đến protein không phải myostatin, không liên quan là nhỏ hơn khoảng 10% so với gắn kết của kháng thể với myostatin như được đo, ví dụ, bằng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA). Theo các phương án đã biết, kháng thể gắn kết với myostatin có hằng số phân ly (Kd) là 1 μM hoặc nhỏ hơn, 100 nM hoặc nhỏ hơn, 10 nM hoặc nhỏ hơn, 1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,01 nM hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,001 nM hoặc nhỏ hơn (ví dụ, 10^{-8} M hoặc nhỏ hơn, ví dụ, từ 10^{-8} M đến 10^{-13} M, ví dụ, từ 10^{-9} M đến 10^{-13} M). Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin gắn kết với một epitop của myostatin mà được bảo tồn trong số myostatin từ các loài khác.

Thuật ngữ "kháng thể" theo sáng chế được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và bao gồm các cấu trúc kháng thể khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể đơn dòng, các kháng thể đa dòng, các kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ,

các kháng thể đặc hiệu kép), và các mảnh kháng thể miễn là chúng biểu hiện hoạt tính gắn kết với kháng nguyên mong muốn.

"Mảnh kháng thể" đề cập đến phân tử khác ngoài kháng thể nguyên vẹn bao gồm một mảnh của kháng thể nguyên vẹn mà gắn kết kháng nguyên với các gắn kết kháng thể nguyên vẹn. Các ví dụ về các mảnh kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; các diabody; các kháng thể mạch thẳng; các phân tử kháng thể chuỗi đơn (ví dụ, scFv); và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể này.

"Kháng thể gắn kết với cùng epitop" như một kháng thể tham chiếu đề cập đến kháng thể ngăn ngừa sự gắn kết của kháng thể tham chiếu với kháng nguyên của chúng trong thử nghiệm cạnh tranh, và/hoặc ngược lại, kháng thể tham chiếu ngăn ngừa sự gắn kết của kháng thể này với kháng nguyên của chúng trong thử nghiệm cạnh tranh. Thử nghiệm cạnh tranh được lấy làm ví dụ được cung cấp ở đây.

Thuật ngữ kháng thể "khảm" đề cập đến kháng thể trong đó một phần của chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng có nguồn gốc từ một nguồn hoặc các loài cụ thể, trong khi phần còn lại của chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng có nguồn gốc từ một nguồn hoặc các loài khác.

"Lớp" của kháng thể đề cập đến kiểu của miền ổn định hoặc vùng ổn định được sở hữu bởi chuỗi nặng của nó. Có 5 lớp chính của các kháng thể: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM, và một vài trong số chúng có thể được chia thành các lớp phụ (các isotyp), ví dụ, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1, và IgA_2. Các miền ổn định chuỗi nặng tương ứng với các lớp khác nhau của các globulin miễn dịch có tên gọi là alpha, delta, epsilon, gama, và mu, tương ứng.

Thuật ngữ "tác nhân gây độc tế bào" theo sáng chế đề cập đến chất mà ức chế hoặc ngăn ngừa chức năng tế bào và/hoặc gây ra chết hoặc tiêu diệt tế bào. Tác nhân gây độc tế bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất đồng vị phóng xạ (ví dụ, At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} và các

chất đồng vị phóng xạ của Lu); các tác nhân hóa học liệu pháp hoặc các thuốc (ví dụ, metotrexat, adriamyxin, các alkaloit ốc mút (vincristin, vinblastin, etoposit), doxorubixin, melphalan, mitomycin C, clorambuxil, daunorubixin hoặc các tác nhân xen vào giữa khác); các tác nhân ức chế tăng trưởng; các enzym và các phần của chúng như các enzym nucleolytic; các kháng sinh; các độc tố như các độc tố phân tử nhỏ hoặc các độc tố hoạt tính như enzym của vi khuẩn, nấm, thực vật hoặc gốc động vật, bao gồm các phần và/hoặc các biến thể của chúng; và các tác nhân kháng bệnh ung thư hoặc kháng khối u khác được bộc lộ dưới đây.

"Các chức năng tác động" đề cập đến các hoạt tính sinh học tượng trưng cho vùng Fc của kháng thể, mà khác với kháng thể isotyp. Các ví dụ về các chức năng phản ứng kháng thể bao gồm: gắn kết C1q và hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC); thụ thể gắn kết Fc; hoạt tính gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC); sự thực bào; điều hòa giảm các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B); và sự hoạt hóa tế bào B.

"Lượng hữu hiệu" của một tác nhân, ví dụ, chế phẩm dược, đề cập đến lượng hữu hiệu, ở các liều dùng trong các khoảng thời gian cần thiết, để đạt được kết quả điều trị hoặc phòng bệnh mong muốn.

Thuật ngữ "epitop" bao gồm phần tử quyết định kháng nguyên bất kỳ có khả năng được gắn kết bởi kháng thể. Một epitop là vùng của kháng nguyên mà được gắn kết bởi kháng thể mà các đích là kháng nguyên, và bao gồm các axit amin cụ thể mà tiếp xúc trực tiếp kháng thể. Các phần tử quyết định epitop có thể bao gồm bề mặt hoạt tính hóa học hợp thành nhóm trong các phân tử như các axit amin, các chuỗi đường bên, các nhóm phosphoryl hoặc sulfonyl, và có thể có cấu trúc ba chiều đặc trưng, và/hoặc các đặc trưng điện tích riêng. Nhìn chung, các kháng thể cụ thể đối với kháng nguyên đích cụ thể sẽ ưu tiên nhận dạng một epitop trên kháng nguyên đích trong phức hợp hỗn hợp của các protein và/hoặc các phân tử lớn.

"Thụ thể Fc " hoặc "FcR" mô tả thụ thể gắn kết với vùng Fc của một kháng thể. Theo một số phương án, FcR là FcR người tự nhiên. Theo một số phương án, FcR là FcR gắn kết kháng thể IgG (thụ thể gama) và bao gồm các thụ thể của các lớp phụ Fc gama RI, Fc gama RII, và Fc gama RIII, bao gồm các biến thể thuộc alen và các dạng nối bổ sung của các thụ thể này. Các thụ thể Fc gama RII bao gồm Fc gama RIIA ("thụ thể hoạt hóa") và Fc gama RIIB ("thụ thể ức chế"), mà có các trình tự axit amin tương tự mà khác biệt chủ yếu trong các miền tế bào chất của chúng. Thụ thể Fc gama RIIA hoạt hóa chứa motif hoạt hóa dựa vào tyrosin thụ thể miễn dịch (ITAM) trong miền tế bào chất của nó. Việc ức chế thụ thể Fc gama RIIB chứa motif ức chế dựa vào tyrosin thụ thể miễn dịch (ITIM) trong miền tế bào chất của nó. (ví dụ, xem: Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997).) Các FcR được xem xét, ví dụ, trong Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); và de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995). Các FcR khác, bao gồm những FcR khác mà chúng được nhận dạng trong tương lai, cũng thuộc thuật ngữ "FcR" theo sáng chế.

Thuật ngữ "thụ thể Fc" hoặc "FcR" cũng bao gồm thụ thể trẻ sơ sinh, FcRn, mà chịu trách nhiệm đối với sự di chuyển của IgG mẹ đến bào thai (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) và Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)) và quy định về tính nội cân bằng của các globulin miễn dịch. Các phương pháp đo việc gắn kết với FcRn là đã biết (xem, ví dụ, Ghetie and Ward., Immunol. Today 18(12):592-598 (1997); Ghetie et al., Nature Biotechnology 15(7):637-640 (1997); Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004); WO 2004/92219 (Hinton et al.). Việc gắn kết với FcRn người *in vivo* và chu kỳ bán thải huyết thanh của các polypeptit gắn kết ái lực cao FcRn người có thể được thử nghiệm, ví dụ, trong chuột chuyển gen hoặc các dòng tế bào người lây nhiễm biểu hiện FcRn người, hoặc ở động vật linh trưởng mà trong đó các polypeptit với vùng Fc biến đổi được cung cấp. WO 2000/42072 (Presta) mô tả các biến thể kháng thể đối với

việc gắn kết với các FcR được cải thiện hoặc được giảm bớt. Xem thêm, ví dụ, Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001).

Thuật ngữ "vùng Fc" ở đây được sử dụng để xác định vùng đầu C của chuỗi nặng globulin miễn dịch mà chứa ít nhất một phần của vùng ổn định. Thuật ngữ bao gồm các vùng Fc trình tự tự nhiên và các vùng Fc biến đổi. Theo một phương án, vùng Fc chuỗi nặng IgG người kéo dài từ Cys226, hoặc từ Pro230, đến đầu cacboxyl của chuỗi nặng. Tuy nhiên, lysin đầu C (Lys447) hoặc glyxin-lysin (các gốc 446-447) của vùng Fc có thể có hoặc không. Trừ khi được quy định khác ở đây, số các gốc axit amin trong vùng Fc hoặc vùng ổn định là theo hệ đánh số EU, cũng được gọi là chỉ số EU, như được mô tả bởi Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Thuật ngữ "kháng thể bao gồm vùng Fc" đề cập đến kháng thể mà bao gồm vùng Fc. Lysin đầu C (gốc 447 theo hệ đánh số EU) hoặc glyxin-lysin đầu C (các gốc 446-447) của vùng Fc có thể được loại bỏ, ví dụ, trong khi tinh chế kháng thể hoặc bằng kỹ thuật tái tổ hợp của axit nucleic mã hóa kháng thể. Do đó, chế phẩm bao gồm kháng thể có vùng Fc theo sáng chế này có thể bao gồm kháng thể với G446-K447, với G446 và không có gốc K447, với tất cả G446-K447 được loại bỏ, hoặc hỗn hợp của ba loại kháng thể nêu trên.

"Khung" hoặc "FR" đề cập đến các gốc miền biến đổi khác ngoài các gốc vùng siêu biến đổi (HVR). FR của miền biến đổi nhìn chung bao gồm bốn miền FR: FR1, FR2, FR3, và FR4. Do đó, các trình tự HVR và FR nhìn chung xuất hiện trong trình tự sau trong VH (hoặc VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

Các thuật ngữ "kháng thể có chiều dài đầy đủ", "kháng thể nguyên vẹn," và "toàn bộ kháng thể" được sử dụng theo sáng chế có thể thay thế cho nhau nhằm đề cập đến kháng thể có cấu trúc về căn bản tương tự với cấu trúc kháng thể tự nhiên hoặc có các chuỗi nặng chứa vùng Fc như được xác định ở đây.

Thuật ngữ "vùng Fc chức năng" sở hữu "chức năng tác động" của vùng Fc có trình tự tự nhiên. Để làm ví dụ "các chức năng tác động" bao gồm gắn kết C1q; CDC; thụ thể gắn kết Fc; ADCC; sự thực bào; điều hòa giảm các thụ thể trên bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B; BCR), v.v.. Các chức năng tác động này nhìn chung cần vùng Fc được kết hợp với miền gắn kết (ví dụ, miền biến đổi của kháng thể) và có thể được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm khác nhau như được bộc lộ, ví dụ, trong các định nghĩa ở đây.

Các thuật ngữ "tế bào chủ", "dòng tế bào chủ" và "nuôi cấy tế bào chủ" được sử dụng có thể thay thế cho nhau nhằm đề cập các tế bào trong đó đã đưa axit nucleic ngoại sinh, thuật ngữ này bao gồm cả các dòng con của các tế bào này. Các tế bào chủ bao gồm "thể biến nạp" và "tế bào biến nạp" trong đó bao gồm tế bào biến đổi sơ cấp và thế hệ con có nguồn gốc từ chúng mà không đề cập đến số lần cấy chuyển. Thế hệ con có thể không giống hoàn toàn về lượng axit nucleic so với tế bào gốc, mà có thể chứa các đột biến. Thế hệ con đột biến mà có cùng chức năng hoặc hoạt tính sinh học mà được sàng lọc hoặc được chọn đối với tế bào biến đổi gốc cũng thuộc phạm vi của thuật ngữ này.

“Kháng thể người” là kháng thể sở hữu trình tự axit amin mà tương ứng với trình tự axit amin của kháng thể được sản xuất bởi người hoặc tế bào người hoặc có nguồn gốc từ nguồn không phải người, nhưng sử dụng các đoạn kháng thể người hoặc các trình tự mã hóa kháng thể người khác. Định nghĩa về kháng thể người này loại không bao hàm cụ thể kháng thể được làm tương thích với người bao gồm các gốc gắn kết kháng nguyên không phải của người.

“Khung liên ứng người” là khung thể hiện hầu hết các gốc axit amin thường xuất hiện khi lựa chọn của các trình tự khung VL hoặc VH globulin miễn dịch của người. Nhìn chung, sự lựa chọn các trình tự VL hoặc VH globulin miễn dịch của người là từ nhóm phụ của các trình tự miền biến đổi. Nhìn chung, nhóm phụ của các trình tự là nhóm phụ như nêu trong tài liệu Kabat et al., Sequences of proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. Theo một phương án, đối với VL, nhóm phụ là nhóm phụ kapa

I như nêu trong tài liệu Kabat et al., nêu trên. Theo một phương án, đối với VH, nhóm phụ là nhóm phụ III như trong tài liệu Kabat et al., nêu trên.

Kháng thể "được làm tương thích với người" đề cập đến kháng thể khảm bao gồm các gốc axit amin từ các HVR không phải của người và các gốc axit amin từ FR của người. Theo các phương án đã biết, kháng thể được làm tương thích với người cơ bản sẽ bao gồm toàn bộ của ít nhất một, và hai miền biến đổi điển hình, trong đó toàn bộ hoặc về cơ bản toàn bộ các HVR (ví dụ, các CDR) tương ứng với chúng là của kháng thể không phải người, và toàn bộ hoặc về cơ bản toàn bộ các FR tương ứng với chúng là của kháng thể người. Kháng thể được làm tương thích với người tùy ý có thể bao gồm ít nhất một phần của vùng ổn định kháng thể có nguồn gốc từ kháng thể người. "Dạng được làm tương thích với người" của kháng thể, ví dụ, kháng thể không phải của người, đề cập đến kháng thể đã trải qua quá trình làm giống như của người.

Thuật ngữ "vùng siêu biến đổi" hoặc "HVR" như được sử dụng theo sáng chế đề cập đến từng vùng của một miền biến đổi kháng thể mà là siêu biến đổi về trình tự ("các vùng xác định tính bổ trợ" hoặc "các CDR") và/hoặc tạo ra các vòng được xác định cấu trúc ("vòng siêu biến đổi") và/hoặc chứa các gốc tiếp xúc kháng nguyên ("các tiếp xúc kháng nguyên"). Nhìn chung, các kháng thể bao gồm sáu HVR: ba trong VH (H1, H2, H3), và ba trong VL (L1, L2, L3). Các HVR được làm ví dụ ở đây bao gồm: (a) vòng siêu biến đổi xuất hiện ở các gốc axit amin 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), và 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)); (b) các CDR xuất hiện ở các gốc axit amin 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), và 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, MD (1991)); (c) các kháng nguyên tiếp xúc xuất hiện ở các gốc axit amin 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), và 93-101 (H3) (MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); và (d) các sự kết hợp của (a), (b), và/hoặc (c), bao gồm các gốc axit amin

HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3), và 94-102 (H3).

Trừ khi có quy định khác, các gốc HVR và các gốc khác trong miền biến đổi (ví dụ, các gốc FR) được đánh số ở đây theo Kabat et al., nêu trên.

"Tiếp hợp miễn dịch" là kháng thể được ghép đôi với một hoặc nhiều phân tử khác loại, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở tác nhân gây độc tế bào.

"Cá thể" hoặc "đối tượng" là động vật có vú. Động vật có vú bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, động vật được thuần hóa (ví dụ, bò, cừu, mèo, chó, và ngựa), các động vật linh trưởng (ví dụ, người và các động vật linh trưởng không phải người như loài khỉ), thỏ, và các loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và họ chuột). Theo các phương án đã biết, cá thể hoặc đối tượng là người.

Kháng thể "được phân lập" là kháng thể đã được tách ra khỏi thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Theo một số phương án, kháng thể được tinh sạch để có độ tinh sạch lớn hơn 95% hoặc 99% như được xác định bởi, ví dụ, liên quan đến điện chuyển (ví dụ, SDS-PAGE, đẳng điện tiêu điểm (IEF), hiện tượng điện chuyển mao dẫn) hoặc sắc ký (ví dụ, sự trao đổi ion hoặc pha đảo HPLC). Đối với việc xem xét về các phương pháp để đánh giá về kháng thể tinh khiết, xem, ví dụ, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

Axit nucleic "được phân lập" đề cập đến phân tử axit nucleic mà được tách ra khỏi thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Axit nucleic được phân lập bao hàm cả phân tử axit nucleic chứa trong các tế bào mà thông thường chứa phân tử axit nucleic, nhưng phân tử axit nucleic này xuất hiện bên ngoài nhiễm sắc thể hoặc ở vùng nhiễm sắc thể mà khác biệt với vùng nhiễm sắc thể tự nhiên của chúng.

"Axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể kháng myostatin" đề cập đến một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kháng thể (hoặc một phần của chúng), bao gồm các phân tử axit nucleic này trong một

vectơ được phân lập hoặc các vectơ riêng rẽ, và các phân tử axit nucleic này có mặt ở một hoặc nhiều vị trí trong tế bào chủ.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" được sử dụng theo sáng chế đề cập đến kháng thể thu được từ quần thể của các kháng thể về cơ bản đồng nhất, tức là, các cá thể kháng thể trong quần thể là tương đồng và/hoặc gắn kết cùng epitop, loại trừ đối với các kháng thể biến thể thích hợp, ví dụ, chứa các đột biến xuất hiện trong tự nhiên hoặc xuất hiện trong khi sản xuất kháng thể đơn dòng, các biến thể này về cơ bản có mặt với lượng nhỏ. Ngược lại với các sự điều chế kháng thể đa dòng, mà điển hình bao gồm các kháng thể khác biệt được định hướng kháng các yếu tố quyết định kháng nguyên (các epitop), mỗi kháng thể đơn dòng của sự điều chế kháng thể đơn dòng được định hướng kháng yếu tố quyết định kháng nguyên độc lập trên kháng nguyên. Do đó, thuật ngữ "đơn dòng" điều chỉnh chỉ đặc tính của kháng thể như đã thu được từ quần thể kháng thể về cơ bản là đồng nhất, và không cần hiểu như là yêu cầu về sản phẩm của phương pháp sản xuất kháng thể bất kỳ. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng để được sử dụng theo sáng chế có thể được tạo ra bởi các kỹ thuật khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp tế bào lai, các phương pháp tái tổ hợp ADN, các phương pháp biểu hiện thực khuẩn thể, và các phương pháp sử dụng động vật chuyển gen chứa toàn bộ hoặc một phần các locus globulin miễn dịch của người, các phương pháp này và các phương pháp khác được lấy làm thí dụ để tạo ra các kháng thể đơn dòng theo sáng chế.

"Kháng thể trần" chỉ kháng thể không được ghép đôi với gốc không tương thích (ví dụ, gốc gây độc tế bào) hoặc nhãn phóng xạ. Kháng thể trần có thể có mặt trong chế phẩm dược.

"Các kháng thể tự nhiên" chỉ các phân tử globulin miễn dịch xuất hiện trong tự nhiên với các cấu trúc khác nhau. Ví dụ, các kháng thể IgG tự nhiên là các glycoprotein dị tứ phân kích thước khoảng 150.000 dalton, gồm có hai chuỗi nhẹ giống nhau và hai chuỗi nặng giống nhau được liên kết disulfit. Từ đầu N đến đầu C, mỗi chuỗi nặng có một vùng biến đổi (VH), cũng được gọi là miền chuỗi nặng

biến đổi hoặc miền biến đổi chuỗi nặng, kế tiếp là ba miền ổn định (CH1, CH2, và CH3). Tương tự, từ đầu N đến đầu C, mỗi chuỗi nhẹ có vùng biến đổi (VL), cũng được gọi là miền chuỗi nhẹ biến đổi hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ, kế tiếp là miền chuỗi nhẹ ổn định (CL). Chuỗi nhẹ của một kháng thể có thể được chia thành một trong hai kiểu, có tên gọi là kapa (kapa) và lambda (lambda), dựa vào trình tự axit amin của miền ổn định của nó.

"Vùng Fc trình tự tự nhiên" bao gồm trình tự axit amin giống với trình tự axit amin của vùng Fc xuất hiện trong tự nhiên. Trình tự vùng Fc của người tự nhiên bao gồm trình tự IgG1 người vùng Fc tự nhiên (các kiểu quyết định kháng nguyên không phải A và A); trình tự người IgG2 vùng Fc tự nhiên; trình tự người IgG3 vùng Fc tự nhiên; và trình tự người IgG4 vùng Fc tự nhiên cũng như các biến thể xuất hiện trong tự nhiên của chúng.

Thuật ngữ "tờ hướng dẫn sử dụng" được sử dụng chỉ các tài liệu chỉ dẫn thông thường có trong các gói thương mại của các sản phẩm điều trị bệnh, chứa thông tin về các chỉ dẫn, việc sử dụng, liều, cách dùng, sự kết hợp điều trị, chống chỉ định và/hoặc các cảnh báo liên quan đến việc sử dụng các sản phẩm chữa bệnh này.

"Phần trăm (%) độ tương đồng trình tự axit amin" về trình tự polypeptit tham chiếu được xác định như tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin trong trình tự ứng viên mà tương đồng với các gốc axit amin trong trình tự polypeptit tham chiếu, sau khi sắp thẳng hàng các trình tự và đưa vào các khoảng hở, nếu cần, để thu được phần trăm độ tương đồng tối đa về trình tự, và không xét đến các sự thay thế bảo tồn bất kỳ như một phần của độ tương đồng về trình tự. Việc so sánh nhằm mục đích xác định phần trăm độ tương đồng trình tự axit amin có thể thu được bằng các cách khác nhau đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, sử dụng phần mềm máy tính được cung cấp rộng rãi như BLAST, BLAST-2, ALIGN, phần mềm Megalign (DNASTAR), hoặc GENETYX (nhãn hiệu đã đăng ký) (Genetyx Co., Ltd.). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định các thông số thích hợp để so sánh

trình tự, bao gồm các thuật toán bất kỳ cần để đạt được sự liên kết tối đa trên toàn bộ độ dài của các trình tự được so sánh.. Chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2 được tạo ra bởi Genentech, Inc., và mã nguồn đã được nộp cùng tài liệu hướng dẫn người dùng tại US Copyright Office, Washington D.C., 20559, mà đã được bảo hộ với số Đăng ký bản quyền Hoa Kỳ TXU510087. Chương trình ALIGN-2 là có sẵn công khai từ Genentech, Inc., South San Francisco, California, hoặc có thể được sưu tập từ mã nguồn. Chương trình ALIGN-2 này thích hợp chạy trên hệ điều hành UNIX, bao gồm digital UNIX V4,0D. Tất cả các thông số so sánh trình tự được cài đặt bởi chương trình ALIGN-2 và không thay đổi.

Trong các tình huống mà ALIGN-2 được sử dụng để so sánh trình tự axit amin, % độ tương đồng trình tự axit amin của trình tự axit amin A đưa ra cùng với, hoặc so với trình tự axit amin B cụ thể (mà theo cách khác có thể được diễn giải như trình tự axit amin A cụ thể mà có hoặc bao gồm % độ tương đồng trình tự axit amin cụ thể giống với, cùng với hoặc so với trình tự axit amin B cụ thể) được tính như sau: 100 lần phân đoạn X/Y; trong đó X là số lượng các gốc axit amin đã được ghi điểm bắt cặp giống bởi chương trình so sánh trình tự ALIGN-2 mà trong đó chương trình thực hiện so sánh A và B, và Y là tổng số lượng các gốc axit amin trong B. Được đánh giá cao rằng nếu chiều dài của trình tự axit amin A không bằng chiều dài của trình tự axit amin B, thì % độ tương đồng trình tự axit amin của A so với B không bằng % độ tương đồng trình tự axit amin của B so với A. Trừ khi có quy định khác, toàn bộ các giá trị % độ tương đồng trình tự axit amin được sử dụng theo sáng chế thu được như được mô tả ở trên một cách trực tiếp bằng cách sử dụng chương trình máy tính ALIGN-2.

Thuật ngữ "chế phẩm dược" đề cập đến sự điều chế mà ở dạng này cho phép hoạt tính sinh học của thành phần hoạt tính được chứa ở đó có hiệu quả, và trong đó không chứa các thành phần bổ sung mà gây độc không thể chấp nhận được cho đối tượng mà có thể sử dụng chế phẩm đó.

"Chất mang dược dụng" đề cập đến thành phần trong chế phẩm dược, khác với thành phần hoạt tính, mà không gây độc cho đối tượng. Chất mang dược dụng

bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất đệm, tá dược, chất ổn định, hoặc chất bảo quản.

Thuật ngữ "myostatin", theo sáng chế có thể đề cập đến myostatin tự nhiên từ nguồn động vật có xương sống bất kỳ, bao gồm động vật có vú như động vật linh trưởng (ví dụ, người) và các loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và họ chuột). Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ "myostatin" đề cập đến protein myostatin của người có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1 và chứa miền propeptit đầu của myostatin người như nêu trong SEQ ID NO: 75 hoặc 78. Thuật ngữ này bao gồm cả myostatin "chiều dài đầy đủ" chưa được xử lý cũng như dạng myostatin bất kỳ thu được từ quá trình xử lý trong tế bào. Thuật ngữ cũng bao gồm các biến thể xuất hiện trong tự nhiên của myostatin, ví dụ, các biến thể ghép hoặc các biến thể thuộc alen. Trình tự axit amin của myostatin của người được lấy làm ví dụ (promyostatin) được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trình tự axit amin của vùng yếu tố sinh trưởng đầu C được lấy làm ví dụ về myostatin của người được nêu trong SEQ ID NO: 2. Trình tự axit amin của miền propeptit đầu N được lấy làm ví dụ về myostatin của người được nêu trong SEQ ID NO: 75 hoặc 78. Myostatin trưởng thành hoạt hóa là dạng homodime được liên kết disulfit bao gồm hai vùng yếu tố sinh trưởng đầu C. Inmyostatin hoạt hóa tiềm ẩn là phức hợp liên kết không hóa trị của hai propeptit và myostatin trưởng thành. Như được bộc lộ ở đây, các kháng thể theo sáng chế gắn kết trong sự hoạt hóa myostatin tiềm ẩn, nhưng không gắn kết myostatin trưởng thành hoạt hóa dạng homodime. Theo một số phương án, các kháng thể theo sáng chế gắn kết epitop trong đoạn bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO:78), nhưng không gắn kết myostatin trưởng thành hoạt hóa dạng homodime. Trình tự axit amin myostatin của khỉ xynomolgus và họ nhà chuột được lấy làm ví dụ (promyostatin) nêu trong SEQ ID NO: 3 và 5, tương ứng. Trình tự axit amin của vùng yếu tố sinh trưởng đầu C được lấy làm ví dụ về myostatin khỉ xynomolgus và họ nhà chuột nêu trong SEQ ID NO: 4 và 6, tương ứng. Trình tự axit amin của miền propeptit đầu N được lấy làm ví dụ về myostatin của khỉ xynomolgus và họ nhà chuột nêu trong SEQ ID

NO: 76 hoặc 79, và 77 hoặc 80, tương ứng. GDF-11 (BMP-11) là phân tử liên quan chặt chẽ với myostatin, cả hai đều là các thành viên của liên họ TGF-beta. Tương tự với myostatin, GDF11 được tổng hợp như một tiền chất polypeptit thứ nhất, và sau đó được phân cắt trong vực trước (prodomain) đầu N và GDF11 trưởng thành đầu C. Trình tự axit amin của GDF11 của người (tiền chất) nêu trong SEQ ID NO: 81. Trình tự axit amin của GDF11 người trưởng thành đầu C nêu trong SEQ ID NO: 82. Trình tự axit amin của vực trước (prodomain) đầu N của GDF11 người nêu trong SEQ ID NO: 83 hoặc 84. Các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, 3, 5, 78, 79, 80, 81, và 84 bao gồm cả trình tự tín hiệu. Các axit amin 1-24 của các trình tự này là tương ứng với nó và chúng được loại bỏ trong quá trình xử lý trong tế bào.

Theo sáng chế, "sự điều trị" (và các biến thể theo ngữ pháp của chúng như "điều trị" hoặc "đang điều trị") đề cập đến sự can thiệp lâm sàng với nỗ lực nhằm thay đổi tiến trình tự nhiên của cá thể đang được điều trị, và có thể được thực hiện hoặc để phòng bệnh hoặc trong quá trình bệnh học lâm sàng. Các hiệu quả mong muốn của sự điều trị bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ngăn ngừa sự xảy ra hoặc sự tái phát bệnh, làm giảm nhẹ các triệu chứng, làm giảm bớt trực tiếp hoặc gián tiếp các hệ quả bệnh lý bất kỳ của bệnh, ngăn ngừa sự di căn, giảm tốc độ tiến triển bệnh, cải thiện hoặc làm giảm nhẹ tình trạng bệnh, và làm dịu hoặc cải thiện tiên lượng bệnh. Theo một số phương án, các kháng thể theo sáng chế được sử dụng để trì hoãn sự phát triển của bệnh hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh.

Thuật ngữ "vùng biến đổi" hoặc "miền biến đổi" đề cập đến miền của một chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ kháng thể mà có thể nằm trong vùng gắn kết kháng thể với kháng nguyên. Các miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (VH và VL, tương ứng) của kháng thể tự nhiên nhìn chung có các cấu trúc giống nhau, với mỗi miền bao gồm bốn vùng khung được bảo tồn (các FR) và ba vùng siêu biến đổi (các HVR). (Xem, ví dụ, Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman và Co., page 91 (2007).) Miền VH hoặc VL được phân lập có thể đủ để giữ được tính đặc hiệu gắn kết kháng nguyên. Hơn thế nữa, các kháng thể gắn kết

kháng nguyên cụ thể có thể sử dụng riêng lẻ miền VH hoặc VL từ kháng thể gắn kết kháng nguyên để quét thư viện của các miền VL hoặc VH bổ sung, tương ứng. Xem, ví dụ, Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

"Vùng Fc biến đổi" bao gồm trình tự axit amin mà khác với trình tự axit amin của trình tự vùng Fc tự nhiên bởi có ít nhất một sự thay đổi axit amin (sự biến đổi), tốt hơn là một hoặc nhiều sự thay thế axit amin. Tốt hơn là, vùng Fc biến đổi này có ít nhất một sự thay thế axit amin so với trình tự vùng Fc tự nhiên hoặc với vùng Fc của polypeptit thể mẹ, ví dụ, từ khoảng một đến khoảng mười sự thay thế axit amin, và tốt hơn là từ khoảng một đến khoảng năm sự thay thế axit amin ở trình tự vùng Fc tự nhiên hoặc ở vùng Fc của polypeptit thể mẹ. Vùng Fc biến đổi ở đây sẽ tốt hơn là có độ tương đồng ít nhất khoảng 80% so với trình tự vùng Fc tự nhiên và/hoặc so với vùng Fc của polypeptit thể mẹ, và tốt nhất là ít nhất có độ tương đồng khoảng 90%, tốt hơn nữa là có độ tương đồng ít nhất khoảng 95%.

Thuật ngữ "vectơ" theo sáng chế, đề cập đến phân tử axit nucleic có khả năng truyền axit nucleic khác tới đối tượng mà chúng được liên kết. Thuật ngữ này bao gồm vectơ như một cấu trúc axit nucleic tự nhân bản cũng như vectơ được kết hợp trong bộ gen của tế bào chủ mà nó đã được đưa vào. Các vectơ đã biết có khả năng định hướng sự biểu hiện của các axit nucleic với đối tượng mà chúng được liên kết một cách có kiểm soát. Các vectơ mà được đề cập theo sáng chế được gọi là "các vectơ biểu hiện".

II. Chế phẩm và phương pháp

Theo một khía cạnh, sáng chế dựa vào, một phần, các kháng thể kháng myostatin và việc sử dụng chúng. Trong các phương án cụ thể, các kháng thể gắn kết với myostatin được đề cập. Các kháng thể theo sáng chế là hữu ích, ví dụ, đối với sự chẩn đoán hoặc điều trị bệnh nhẽo cơ.

Theo khía cạnh khác, sáng chế dựa vào, một phần, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi và việc sử dụng chúng. Theo một phương án, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường được đề cập. Theo phương án khác, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường được đề cập. Theo các phương án cụ thể, các polypeptit theo sáng chế là các kháng thể. Các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế là hữu ích, ví dụ, đối với sự chẩn đoán hoặc điều trị bệnh.

A. Các kháng thể kháng myostatin và các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi được lấy làm ví dụ

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các kháng thể được phân lập gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với propeptit myostatin (người: SEQ ID NO: 75 hoặc 78; khỉ xynomolgus: SEQ ID NO: 76 hoặc 79; chuột: SEQ ID NO: 77 hoặc 80). Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với epitop bên trong một mảnh bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Propeptit được chứa trong myostatin tiềm ẩn như một trong các thành phần, như được mô tả trên đây. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế ức chế sự hoạt hóa của myostatin. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin phong bế sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn. Đã từng được báo cáo rằng myostatin trưởng thành được giải phóng nhờ sự phân giải protein và các quá trình không phân giải protein từ myostatin tiềm ẩn. Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể phong bế sự giải phóng phân giải protein và/hoặc không phân giải protein của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin phong bế sự giải phóng phân giải protein của myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin ngăn ngừa sự tiếp cận của proteaza đến myostatin tiềm ẩn (cụ thể là, đến vị trí phân cắt protein (Arg98-Asp99) của myostatin tiềm ẩn). Theo các phương án nữa, proteaza có thể là

metalloproteaza họ BMP1/TLD như BMP1, TED, protein-1 như tolloit (TLL-1), hoặc protein-2 như tolloit (TLL-2). Theo phương án khác, kháng thể kháng myostatin phong bế sự giải phóng không phân giải protein của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn. Sự giải phóng không phân giải protein được sử dụng theo sáng chế có nghĩa là sự giải phóng tự phát của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn, nhưng không đi kèm với việc phân tách phân cắt protein của myostatin tiềm ẩn. Sự giải phóng không phân giải protein này bao gồm, ví dụ, sự giải phóng của myostatin trưởng thành bằng cách ủ myostatin tiềm ẩn Ví dụ, ở 37 ^{o}C trong điều kiện không có mặt proteaza mà phân cắt myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế không gắn kết với myostatin trưởng thành. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo các phương án bổ sung, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết mảnh bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78) với kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 11a hoặc 13. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với một kháng thể được mô tả ở Bảng 11a hoặc 13. Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin cạnh tranh để gắn kết với mảnh bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78) với một kháng thể được mô tả ở Bảng 11a hoặc 13.

Theo một số phương án, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với myostatin tiềm ẩn và ức chế sự hoạt hóa của myostatin. Theo các phương án nữa, kháng thể này: (a) phong bế sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn; (b) phong bế sự giải phóng phân giải protein của myostatin trưởng thành; (c) phong bế sự giải phóng tự phát của myostatin trưởng thành; hoặc

(d) không gắn kết với myostatin trưởng thành; hoặc gắn kết với epitop bên trong mảnh bao gồm các axit amin 21-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Theo các phương án nữa, kháng thể cạnh tranh để gắn kết myostatin tiềm ẩn với, hoặc gắn kết cùng epitop như, kháng thể bao gồm cặp VH và VL được mô tả ở các Bảng 2a, 11a, hoặc 13. Theo các phương án nữa, kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn với ái lực ở pH trung tính (ví dụ, pH 7,4) lớn hơn ái lực ở pH có tính axit (ví dụ, pH 5,8). Theo các phương án nữa, kháng thể này là (a) kháng thể đơn dòng, (b) kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc của người; (c) kháng thể IgG có chiều dài đầy đủ hoặc (d) mảnh kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn hoặc propeptit myostatin.

Theo phương án khác, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế không gắn kết với GDF11. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế không ức chế sự hoạt hóa của GDF11. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin không phong bế sự giải phóng của GDF11 trưởng thành từ GDF11 tiềm ẩn. Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế không phong bế sự giải phóng phân giải protein hoặc không phân giải protein của GDF11 trưởng thành từ GDF11 tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin không chặn sự chia tách phân giải protein của GDF11 tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin không chặn sự tiếp cận của proteaza đến GDF11 tiềm ẩn (cụ thể là, đến vị trí phân cắt phân giải protein của GDF11 tiềm ẩn). Theo các phương án nữa, proteaza có thể là metalloproteaza họ BMP1/TLD như BMP1, TED, protein-1 như tolloit (TLL-1), hoặc protein-2 như tolloit (TLL-2). Sự giải phóng không phân giải protein theo sáng có nghĩa là sự giải phóng tự phát của GDF11 trưởng thành từ GDF11 tiềm ẩn, chứ không phải bởi sự phân cắt phân giải protein của GDF11 tiềm ẩn. Sự giải phóng không phân giải protein bao gồm, ví dụ, sự giải phóng của GDF11 trưởng thành ví dụ bằng cách ủ GDF11 tiềm ẩn, ở 37 °C trong điều kiện không có mặt của proteaza mà chúng phân cắt GDF11 tiềm ẩn. Hầu hết các kháng thể kháng myostatin đã biết đến giờ là không đặc hiệu cho myostatin. Các kháng thể này có ái lực cao đối với các thành viên

khác của liên họ TGF-beta, như GDF11 và trung hòa hoạt tính sinh học của chúng. GDF11 đóng vai trò quan trọng trong suốt quá trình phát triển của phôi, và chịu trách nhiệm đối với sự biến đổi điều chỉnh phát sinh hình thái của cột sống. Chuột gây mê GDF11 có gen xác định tính trạng là gây hại thời kỳ cuối thai kỳ, chuột với bản sao dạng tự nhiên của của gen GDF11 là có thể sống sót, nhưng có các khiếm khuyết về xương. Do GDF11 đóng vai trò quan trọng suốt sự phát triển của phôi, nên chất đối kháng mà ức chế các GDF11 tạo ra nguy cơ an toàn về mặt lý thuyết như xuất hiện độc tính trong các bệnh nhân được điều trị hoặc gây độc về sức khỏe sinh sản trong, ví dụ, phụ nữ có khả năng đang mang thai. Do đó, có nhu cầu đối với sự ức chế đặc hiệu đối với hoạt tính của myostatin trong việc điều trị các rối loạn liên quan đến myostatin, trong đó mong muốn tăng khối lượng, kích thước, độ bền cơ, v.v., cụ thể là ở phụ nữ có khả năng đang mang thai.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các kháng thể kháng myostatin biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo sáng chế, sự biểu hiện "gắn kết phụ thuộc pH" có nghĩa là kháng thể biểu hiện "việc gắn kết với myostatin giảm ở pH có tính axit so với việc gắn kết ở pH trung tính" (theo mục đích của sáng chế, cả hai sự biểu hiện này có thể được sử dụng thay thế cho nhau). Ví dụ, các kháng thể "với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH" bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit. Theo các phương án đã biết, các kháng thể theo sáng chế gắn kết với myostatin với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ít nhất 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần hoặc lớn so với ái lực ở pH có tính axit. Theo một số phương án, các kháng thể gắn kết với myostatin (ví dụ, myostatin tiềm ẩn hoặc propeptit myostatin) với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ái lực ở pH 5,8. Theo các phương án nữa, các kháng thể gắn kết với myostatin với ái lực ở pH 7,4 lớn hơn ít nhất 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần, hoặc hơn so với ái lực ở pH 5,8.

Nếu kháng nguyên là protein hòa tan, thì sự gắn kết của kháng thể với kháng nguyên này có thể dẫn tới kéo dài chu kỳ bán thải của kháng nguyên trong huyết tương (tức là, sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương giảm), nên kháng thể có thể có chu kỳ bán thải trong huyết tương dài hơn so với bản thân kháng nguyên đó và có thể đóng vai trò như một chất mang đối với kháng nguyên. Điều này là do sự tái sử dụng của phức hợp kháng nguyên-kháng thể bởi FcRn thông qua con đường hạt cơ quan nội bào trong tế bào (Roopenian, Nat. Rev. Immunol. 7(9): 715-725 (2007)). Tuy nhiên, kháng thể với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH, mà gắn kết với kháng nguyên của nó trong môi trường ngoại bào trung hòa trong khi giải phóng kháng nguyên thành các phần nhỏ hạt cơ quan nội bào có tính axit sau khi đi vào tế bào của nó, thì được mong đợi là có các đặc tính tốt hơn dưới dạng trung hòa và sự đào thải kháng nguyên tương ứng với bản sao của nó mà gắn kết theo cách không phụ thuộc pH (Igawa et al., Nature Biotechnol. 28(11):1203-1207 (2010); Devanaboyina et al., mAbs 5(6):851-859 (2013); WO 2009/125825).

"Ái lực" của kháng thể đối với myostatin, theo các mục đích của sáng chế, được biểu hiện dưới dạng KD của kháng thể. KD của kháng thể là đề cập đến hằng số phân ly cân bằng của sự tương tác kháng thể-kháng nguyên. Giá trị KD đối với việc gắn kết kháng thể với kháng nguyên của nó càng lớn thì ái lực gắn kết của nó đối với kháng nguyên cụ thể càng nhỏ. Do đó, theo sáng chế, sự biểu hiện "ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit" (hoặc sự biểu hiện "gắn kết phụ thuộc pH" tương đương) có nghĩa rằng KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH có tính axit là lớn hơn KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH trung tính. Ví dụ, trong ngữ cảnh của sáng chế, kháng thể được coi là gắn kết với myostatin với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit nếu KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH có tính axit lớn hơn KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH trung tính ít nhất 2 lần. Do đó, sáng chế bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin ở pH có tính axit với KD ít nhất là 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần, hoặc hơn so với KD của việc gắn kết kháng

thể với myostatin ở pH trung tính. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH trung tính có thể là 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH có tính axit có thể là 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, hoặc lớn hơn.

Theo các phương án nữa kháng thể được coi là để gắn kết với myostatin (ví dụ, myostatin tiềm ẩn hoặc propeptit myostatin) với ái lực ở pH trung tính lớn hơn ái lực ở pH có tính axit nếu KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH 5,8 là lớn hơn KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH 7,4 ít nhất 2 lần. Theo một số phương án các kháng thể được đề cập gắn kết với myostatin ở pH 5,8 với KD ít nhất là 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần, hoặc hơn so với KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH 7,4. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 7,4 có thể là 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 5,8 có thể là 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, hoặc lớn hơn.

Các đặc tính gắn kết của kháng thể đối với kháng nguyên cụ thể cũng có thể được biểu hiện dưới dạng kd của kháng thể. Giá trị kd của kháng thể này đề cập đến hằng số tốc độ phân ly của kháng thể đối với một kháng nguyên cụ thể và được biểu hiện dưới dạng trên giây (tức là, sec^{-1}). Giá trị kd càng tăng biểu thị sự gắn kết kháng thể với kháng nguyên của nó càng yếu. Sáng chế do đó bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin với giá trị kd ở pH có tính axit lớn hơn so với pH trung tính. Sáng chế bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin ở pH có tính axit với kd mà ít nhất 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần, hoặc lớn hơn so với kd của kháng thể gắn kết với myostatin ở pH trung tính. Theo phương án khác, giá trị kd của kháng thể ở pH trung tính có thể là 10^{-2} 1/s, 10^{-3} 1/s, 10^{-4} 1/s, 10^{-5} 1/s, 10^{-6} 1/s, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị kd của kháng thể ở pH có tính axit có thể là 10^{-3} 1/s, 10^{-2} 1/s, 10^{-1} 1/s, hoặc lớn hơn. Sáng chế cũng bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin (ví dụ, myostatin tiềm ẩn hoặc propeptit myostatin) với

giá trị kd ở pH 5,8 lớn hơn so với kd ở pH 7,4. Sáng chế bao gồm các kháng thể gắn kết với myostatin ở pH 5,8 với kd mà ít nhất 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000 lần, hoặc lớn so với kd của kháng thể gắn kết với myostatin ở pH 7,4. Theo phương án khác, giá trị kd của kháng thể ở pH 7,4 có thể là 10^{-2} 1/s, 10^{-3} 1/s, 10^{-4} 1/s, 10^{-5} 1/s, 10^{-6} 1/s, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị kd của kháng thể ở pH 5,8 có thể là 10^{-3} 1/s, 10^{-2} 1/s, 10^{-1} 1/s, hoặc lớn hơn.

Theo các ví dụ cụ thể, "việc gắn kết với myostatin ở pH có tính axit giảm khi so với gắn kết của nó ở pH trung tính" được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ của giá trị KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH có tính axit với giá trị KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH trung tính (hoặc ngược lại). Ví dụ, kháng thể có thể được đề cập đến như sự biểu hiện "việc gắn kết giảm với myostatin ở pH có tính axit khi so với gắn kết của nó ở pH trung tính", cho các mục đích theo sáng chế, nếu kháng thể biểu hiện tỷ lệ kd tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ KD pH 5,8/pH 7,4 đối với kháng thể kháng myostatin theo sáng chế là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án cụ thể được lấy làm ví dụ, tỷ lệ KD tính axit/trung tính đối với kháng thể theo sáng chế có thể là 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000, hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH trung tính có thể là 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH có tính axit có thể là 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, hoặc lớn hơn. Theo các ví dụ khác kháng thể có thể được đề cập đến như sự biểu hiện "việc gắn kết giảm với myostatin (ví dụ, myostatin tiềm ẩn) ở pH có tính axit khi so với gắn kết của nó ở pH trung tính", nếu kháng thể biểu hiện tỷ lệ KD pH 5,8/pH 7,4 là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án cụ thể được lấy làm ví dụ, tỷ lệ KD pH 5,8/pH 7,4 đối với kháng thể có thể là 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000, hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 7,4 có thể là 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M,

10^{-12} M, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 5,8 có thể là 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, hoặc lớn hơn.

Theo các ví dụ cụ thể, "việc gắn kết giảm với myostatin ở pH có tính axit khi so với gắn kết của nó ở pH trung tính" được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ của giá trị KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH có tính axit với giá trị KD của việc gắn kết kháng thể với myostatin ở pH trung tính (hoặc ngược lại). Ví dụ, kháng thể có thể được đề cập đến như là có sự biểu hiện "việc gắn kết giảm với myostatin ở pH có tính axit khi so với gắn kết của nó ở pH trung tính", theo các mục đích của sáng chế, nếu kháng thể biểu hiện tỷ lệ KD tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án cụ thể được lấy làm ví dụ, tỷ lệ KD pH 5,8/pH 7,4 đối với kháng thể theo sáng chế là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án cụ thể được lấy làm ví dụ, tỷ lệ KD tính axit/trung tính đối với kháng thể theo sáng chế có thể là 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000, hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH trung tính có thể là 10^{-2} 1/s, 10^{-3} 1/s, 10^{-4} 1/s, 10^{-5} 1/s, 10^{-6} 1/s, hoặc thấp hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH có tính axit có thể là 10^{-3} 1/s, 10^{-2} 1/s, 10^{-1} 1/s, hoặc lớn hơn. Theo các phương án cụ thể được lấy làm ví dụ, pH 5,8/pH 7,4 tỷ lệ KD cho một kháng thể theo sáng chế có thể là 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 400, 1000, 10000, hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 7,4 có thể là 10^{-2} 1/s, 10^{-3} 1/s, 10^{-4} 1/s, 10^{-5} 1/s, 10^{-6} 1/s, hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của kháng thể ở pH 5,8 có thể là 10^{-3} 1/s, 10^{-2} 1/s, 10^{-1} 1/s, hoặc lớn hơn.

Theo sáng chế, sự biểu hiện "pH có tính axit" có nghĩa là pH là 4,0 đến 6,5. Sự biểu hiện "pH có tính axit" bao gồm các giá trị pH bất kỳ trong số 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, và 6,5. Các khía cạnh cụ thể là, "pH có tính axit" là 5,8.

Theo sáng chế, sự biểu hiện "pH trung tính" có nghĩa là pH là 6,7 đến khoảng 10,0. Sự biểu hiện "pH trung tính" bao gồm các giá trị pH bất kỳ trong số 6,7, 6,8,

6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, và 10,0. Các khía cạnh cụ thể là, "pH trung tính" là 7,4.

Các giá trị KD, và giá trị kd, như được biểu hiện ở đây, có thể được xác định bằng cách sử dụng cảm biến sinh học trên cơ sở cộng hưởng plasmon bề mặt để đặc tả sự tương tác kháng thể-kháng nguyên. (Ví dụ, xem ví dụ 7, ở đây.) các giá trị KD, và các giá trị kd có thể được xác định ở 25 °C hoặc 37 °C.

Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với myostatin có nguồn gốc từ nhiều hơn một loài. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin có nguồn gốc từ người và động vật không phải người. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin có nguồn gốc từ người, chuột, và khỉ (ví dụ, xynomolgus, khỉ nâu ở Ấn Độ, khỉ đuôi sóc, tinh tinh, hoặc khỉ đầu chó).

Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với myostatin tiềm ẩn có nguồn gốc từ nhiều hơn một loài. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin tiềm ẩn có nguồn gốc từ người và động vật không phải người. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với myostatin tiềm ẩn có nguồn gốc từ người, chuột, và khỉ.

Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế gắn kết với propeptit myostatin có nguồn gốc từ nhiều hơn một loài. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với propeptit myostatin có nguồn gốc từ người và động vật không phải người. Theo các phương án nữa, kháng thể kháng myostatin gắn kết với propeptit myostatin có nguồn gốc từ người, chuột, và khỉ.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin tạo thành phức hợp thể miễn dịch (tức là, phức hợp kháng nguyên-kháng thể) với myostatin. Theo các phương án đã biết, hai hoặc nhiều kháng thể kháng myostatin gắn kết với hai hoặc nhiều phân tử myostatin để tạo thành phức hợp thể miễn dịch. Điều này có thể là do myostatin tồn tại như một homodime chứa hai phân tử

myostatin trong khi kháng thể có hai vị trí gắn kết kháng nguyên. Kháng thể kháng myostatin có thể gắn kết cùng epitop trên phân tử myostatin hoặc có thể gắn kết với các epitop khác trên phân tử myostatin, như là kháng thể đặc hiệu kép. Tóm lại, khi hai hoặc nhiều kháng thể tạo thành một phức hợp miễn dịch với hai hoặc nhiều kháng nguyên, thì phức hợp miễn dịch tạo ra này có thể gắn kết mạnh với các thụ thể Fc tồn tại trên bề mặt các tế bào do tác động ái lực thông qua các vùng Fc của các kháng thể trong phức hợp và sau đó có thể được bắt giữ trong tế bào với hiệu suất cao. Do đó, kháng thể kháng myostatin nêu trên có khả năng tạo thành phức hợp miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể kháng myostatin và hai hoặc nhiều phân tử myostatin có thể dẫn tới sự đào thải nhanh của myostatin ra khỏi huyết tương trong một cơ thể sống, nhờ việc gắn kết mạnh với các thụ thể Fc với tác động ái lực.

Hơn thế nữa, kháng thể với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH là việc tính đến các đặc tính tốt hơn ở khía cạnh trung hòa và đào thải kháng nguyên tương ứng với đối tác của nó mà gắn kết độc lập với pH (Igawa et al., Nature Biotech. 28(11):1203-1207 (2010); Devanaboyina et al. mAbs 5(6):851-859 (2013); WO 2009/125825). Do đó, kháng thể có cả các đặc tính trên đây, mà là, kháng thể có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH và chúng tạo thành phức hợp miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể với hai hoặc nhiều kháng nguyên, được mong đợi để có thậm chí nhiều hơn nữa các đặc tính tốt hơn để loại bỏ nhanh chóng các kháng nguyên ra khỏi huyết tương (WO 2013/081143).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115, 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124, 129; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu

trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu vùng siêu biến đổi (HVR) được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO:114-115; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID

NO: 63; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115, 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115, 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 114-115; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ

ID NO: 114-115; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124, 129; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69,122-124, 129; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO 131.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114, 115, 126 (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả

ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124, 129, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130 và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 114-115, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 71, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115, 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124, 129; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115; (b)

HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 114-115; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 116-120; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 128; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131.

Theo các phương án đã biết, một hoặc nhiều axit amin bất kỳ của kháng thể kháng myostatin như được đề cập trên đây được thế tại các vị trí HVR sau: (a) trong HVR-H1 (SEQ ID NO: 55), tại các vị trí 1, và 2; (b) trong HVR-H2 (SEQ ID NO: 58), tại các vị trí 4, 7, 8, 10, 11, 12, và 16; (c) trong HVR-H3 (SEQ ID NO: 61), tại các vị trí 5, 7, và 11; (d) trong HVR-L1 (SEQ ID NO: 65), tại các vị trí 1, 2, 5, 7, 8, và 9; (e) trong HVR-L2 (SEQ ID NO:70), tại các vị trí 3, và 7; và (f) trong HVR-L3 (SEQ ID NO:73), tại vị trí 8.

Theo các phương án đã biết, một hoặc nhiều sự thay thế axit amin của kháng thể kháng myostatin là các sự thay thế bảo tồn, như được đề cập ở đây. Theo các phương án đã biết, một hoặc nhiều các sự thay thế bất kỳ dưới đây có thể được thực hiện theo cách kết hợp bất kỳ: (a) trong HVR-H1 (SEQ ID NO: 55), S1H; Y2T, D, hoặc E; (b) trong HVR-H2 (SEQ ID NO: 58), Y4H; S7K; T8M hoặc K; Y10K; A11M hoặc E; S12E; G16K; (c) trong HVR-H3 (SEQ ID NO: 61), Y5H; T7H; L11K; (d) trong HVR-L1 (SEQ ID NO: 65), Q1T; S2T; S5E; Y7F; D8H; N9D hoặc A hoặc E; (e) trong HVR-L2 (SEQ ID NO: 70), S3E; S7Y, F hoặc W; và (f) trong HVR-L3 (SEQ ID NO: 73), L8R.

Tất cả các sự kết hợp có thể của các sự thay thế trên đây được bao gồm bởi các trình tự liên ứng nêu trong SEQ ID NO: 126, 127, 128, 129, 130, và 131 đối với HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2, và HVR-L3, tương ứng.

Theo các phương án bất kỳ nêu trên, kháng thể kháng myostatin có thể được làm tương thích với người. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin bao gồm các HVR như trong các phương án bất kỳ nêu trên, và còn bao gồm khung người nhận, ví dụ, khung globulin miễn dịch người hoặc khung liên ứng của người. Theo phương án khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm các HVR như trong

các phương án bất kỳ nêu trên, và còn bao gồm VH hoặc VL bao gồm trình tự FR. Theo một phương án khác nữa, kháng thể kháng myostatin bao gồm các trình tự miền biến đổi FR chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ dưới đây: Đối với miền biến đổi chuỗi nặng, FR1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 132-134, FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 135-136, FR3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137, FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138. Đối với miền biến đổi chuỗi nhẹ, FR1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, FR2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 140-141, FR3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 142-143, FR4 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin bao gồm ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 157-162; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174; (d) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 175-180; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 181-186; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 157-162; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174 và HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID

NO: 169-174, HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192, và HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168. Theo một phương án khác nữa, kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 157-162; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168; và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 175-180; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 181-186; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192. Theo một phương án, kháng thể bao gồm (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 175-180; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 181-186; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192.

Theo khía cạnh khác, kháng thể theo sáng chế bao gồm (a) miền VH bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VH HVR được chọn từ (i) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 157-162, (ii) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168, và (iii) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174; và (b) miền VL bao gồm ít nhất một, ít nhất hai, hoặc cả ba trình tự VL HVR được chọn từ (i) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 175-180, (ii) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 181-186, và (iii) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể bao gồm (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 157-162; (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 163-168; (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 169-174; (d) HVR-L1

bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 175-180; (e) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 181-186; và (f) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 187-192.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự chuỗi nặng miền biến đổi (VH) có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% mà chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, 114-115, 126, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, 116-120, 127, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61-64, 121, 128. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32, 33, và 34. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với các sự thay thế (ví

dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 13, 16-30, 32, 33 và 34. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 13, 16-30, 32, 33, và 34, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55-57, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58-60, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong các SEQ ID NO: 61-64. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 86-95. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 86-95. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 86-95, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin

bất kỳ nêu trong các SEQ ID NO: 57, 114-115, 126, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong các SEQ ID NO: 58, 116-120, 127, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong các SEQ ID NO: 63, 121, 128. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong SEQ ID NO: 86. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 86, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa. Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn

vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong SEQ ID NO: 92. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH trong SEQ ID NO: 92, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 114, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% có các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự này vẫn duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL theo trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69, 122-124, 129; (b) HVR-L2 bao

gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72, 125, 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74, 131. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35, 36, 37, và 38. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự này vẫn duy trì khả năng gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo bất kỳ trong số SEQ ID NO: 15, 31, 35, 36, 37, và 38. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL theo bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35, 36, 37, và 38, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65-69; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70-72; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73-74. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 96-99. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 96-99. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR. Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL theo bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 96-99, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 122-124, 129; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong các SEQ ID NO: 71, 125, 130; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, 131. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 96. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong SEQ ID NO: 96. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR. Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL trong SEQ ID NO: 96, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1

bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 97. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số là 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong SEQ ID NO: 97. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR. Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL trong SEQ ID NO: 97, bao gồm các biến đổi sau khi dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VH như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên, và VL như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên. Theo một phương án, kháng thể bao gồm các trình tự VH và VL theo trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, 32-34, và 86-95 và trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, 35-38, và 96-99, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự đó. Theo một phương án, kháng thể bao gồm các trình tự VH và VL bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 13, 16-30, và 32-34, và trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 15, 31, và 35-

38, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự đó. Theo một phương án, kháng thể bao gồm các trình tự VH và VL bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 86-95 và trình tự bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 96-99, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự đó. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VH như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên, và VL như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên. Theo một phương án, kháng thể bao gồm các trình tự VH và VL trong SEQ ID NO: 86 và SEQ ID NO: 96, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự đó. Theo một phương án, kháng thể bao gồm các trình tự VH và VL trong SEQ ID NO: 92 và SEQ ID NO: 97, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự này. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 12, 145-150. Theo các phương án đã biết, trình tự VH có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số từ 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ trong trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 12, 145-150. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VH theo trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 12, 145-150, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VH bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn

từ: (a) HVR-H1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 55, 157-162, (b) HVR-H2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 58, 163-168, và (c) HVR-H3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 61, 169-174. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nhẹ miền biến đổi (VL) có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 14, 151-156. Theo các phương án đã biết, trình tự VL có độ tương đồng ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các sự thay thế (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn), chèn vào, hoặc loại bỏ tương ứng so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự duy trì khả năng để gắn kết với myostatin. Theo các phương án đã biết, tổng số từ 1 đến 10 axit amin đã từng được thế, được chèn vào và/hoặc được loại bỏ theo trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 14, 151-156. Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ xảy ra ở các vùng bên ngoài các HVR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể kháng myostatin bao gồm trình tự VL theo trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 14, 151-156, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của trình tự đó. Theo một phương án cụ thể, VL bao gồm một, hai hoặc ba HVR được chọn từ (a) HVR-L1 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 65, 175-180; (b) HVR-L2 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 70, 181-186; và (c) HVR-L3 bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 73, 187-192. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo khía cạnh khác, kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó kháng thể bao gồm VH như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên, và VL như

theo phương án bất kỳ đề cập ở trên. Theo một phương án, kháng thể bao gồm trình tự VH và VL theo trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 12, 145-150 và trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 14, 151-156, tương ứng, bao gồm các biến đổi sau dịch mã của các trình tự đó. Các biến đổi sau dịch mã bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc biến đổi glutamin hoặc glutamat ở đầu N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa.

Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế bao gồm VH như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên và vùng ổn định chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 7, 9, 11, 193, 195-198, 227, 228, 229-381. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin theo sáng chế bao gồm VL như theo phương án bất kỳ được đề cập ở trên, và vùng ổn định chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 8 và 10.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến kháng thể gắn kết với cùng epitop như một kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây. Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở Bảng 2a. Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể được mô tả ở các Bảng 11a hoặc 13. Theo các phương án đã biết, kháng thể được cung cấp gắn kết với epitop trong một phần của propeptit myostatin bao gồm các axit amin 21-100 nêu trong SEQ ID NO: 78. Ngoài ra, kháng thể gắn kết với mảnh propeptit myostatin bao gồm các axit amin 21-80, 41-100, 21-60, 41-80, 61-100, 21-40, 41-60, 61-80, hoặc 81-100, nêu trong SEQ ID NO: 78.

Theo khía cạnh nữa theo sáng chế, kháng thể kháng myostatin theo các phương án bất kỳ nêu trên là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc kháng thể người. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin là một mảnh kháng thể, ví dụ, Fv, Fab, Fab', scFv, diabody, hoặc một phần $F(ab')_2$. Theo phương án khác, kháng thể là kháng thể IgG toàn vẹn, ví

dụ, kháng thể IgG4 hoặc IgG1 nguyên vẹn hoặc lớp kháng thể khác hoặc isotyp như được xác định ở đây.

Theo khía cạnh nữa, kháng thể kháng myostatin theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể kết hợp các đặc tính bất kỳ, riêng lẻ hoặc kết hợp, như được mô tả ở các phần 1-7 dưới đây.

1. Ái lực kháng thể

Theo các phương án đã biết, kháng thể được đề cập có hằng số phân ly (Kd) là 1 micro M hoặc nhỏ hơn, 100 nM hoặc nhỏ hơn, 10 nM hoặc nhỏ hơn, 1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,01 nM hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,001 nM hoặc nhỏ hơn (ví dụ, 10^{-8} M hoặc nhỏ hơn, ví dụ, từ 10^{-8} M đến 10^{-13} M, ví dụ, từ 10^{-9} M đến 10^{-13} M).

Theo một phương án, Kd được đo bằng thử nghiệm gắn kết kháng nguyên được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ (RIA). Theo một phương án, RIA được thực hiện với phiên bản Fab của một kháng thể liên quan và kháng nguyên của nó. Ví dụ, ái lực gắn kết dung dịch của các Fab đối với kháng nguyên được đo bằng cách làm cân bằng Fab với nồng độ tối thiểu của kháng nguyên được dán nhãn (^{125}I) với sự có mặt của các chuỗi chuẩn độ của kháng nguyên không được dán nhãn, sau đó bắt giữ được gắn kết kháng nguyên với đĩa được phủ kháng thể kháng Fab (xem, ví dụ, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)). Để thiết lập các tình trạng đối với thử nghiệm, MICROTITER (nhãn hiệu được đăng ký) các đĩa nhiều giếng (Thermo Scientific) được phủ qua đêm với 5 micro g/ml của kháng thể kháng Fab bắt giữ (Cappel Labs) trong 50 mM natri cacbonat (pH 9,6), và sau đó được chặn với 2% (w/v) albumin huyết thanh bò trong PBS trong khoảng từ hai đến năm giờ ở nhiệt độ phòng (xấp xỉ 23 °C). Trong đĩa không hấp thu (Nunc #269620), 100 pM hoặc 26 pM [^{125}I]-kháng nguyên được trộn với chuỗi pha loãng của Fab liên quan (ví dụ, phù hợp với sự đánh giá về kháng thể kháng VEGF, Fab-12, trong Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). Sau đó Fab liên quan được ủ qua đêm; tuy nhiên, việc ủ có thể tiếp tục trong thời gian dài hơn (ví

dụ, khoảng 65 giờ) để đảm bảo đạt được trạng thái cân bằng. Sau đó, các hỗn hợp được cấy vào đĩa bắt giữ để ủ ở nhiệt độ phòng (ví dụ, trong 1 giờ). Sau đó dung dịch được loại bỏ và đĩa này được rửa tám lần với 0,1% polysorbat 20 (TWEEN-20 (nhãn hiệu được đăng ký)) trong PBS. Khi các đĩa đã khô, 150 micro l/giếng của máy dò nhấp nháy (MICROSCINT-20 ™; Packard) được bổ sung, và các đĩa được đếm trên máy đếm gama TOPCOUNT ™ (Packard) trong 10 phút. Các nồng độ của mỗi Fab đưa ra nhỏ hơn hoặc bằng với 20% của gắn kết tối đa được chọn để sử dụng trong các thử nghiệm gắn kết cạnh tranh.

Theo phương án khác, Kd được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký). Ví dụ, thử nghiệm sử dụng BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký)-2000 hoặc BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký)-3000 (BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), Inc., Piscataway, NJ) được thực hiện ở 25 °C với các vi mạch kháng nguyên CM5 được cố định khoảng 10 đơn vị phản ứng (RU). Theo một phương án, các vi mạch cảm biến sinh học dextran được cacboxymetyl hóa (CM5, BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), Inc.) được hoạt hóa với N-etyl-N'- (3-dimetylaminopropyl)-carbodiimit hydroclorua (EDC) và N-hydroxysuccinimit (NHS) theo các hướng dẫn của nhà cung cấp. Kháng nguyên được pha loãng với 10 mM natri axetat, pH 4,8, đến 5 micro g/ml (~0,2 micro M) trước khi tiêm ở tốc độ dòng chảy là 5 micro l/phút để đạt được khoảng 10 đơn vị phản ứng (RU) của protein ghép cặp. Tiếp sau khi tiêm kháng nguyên, 1 M etanolamin được tiêm để phong bế các nhóm không phản ứng. Đối với các phép đo động lực, các chuỗi pha loãng hai-lần của Fab (0,78 nM đến 500 nM) được tiêm vào PBS với 0,05% chất có hoạt tính bề mặt polysorbat 20 (TWEEN-20™) (PBST) ở 25 °C ở tốc độ dòng chảy xấp xỉ 25 micro l/phút. Các tốc độ kết hợp (k_{on}) và các tốc độ phân ly (k_{off}) được tính toán sử dụng kiểu gắn kết Langmuir 1-đến-1 đơn giản (BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) Phần mềm đánh giá phiên bản 3.2) bằng cách điều chỉnh đồng thời các cảm biến sensorgram kết hợp và phân ly. Hằng số phân ly cân bằng (Kd) được tính theo tỷ lệ k_{off}/k_{on}. Xem, ví dụ, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Nếu tốc độ làm việc

vượt quá 10^6 M^{-1} s^{-1} bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt trên đây, sau đó tốc độ làm việc có thể được xác định sử dụng kỹ thuật dập tắt huỳnh quang để đo sự tăng hoặc giảm về cường độ phát phát huỳnh quang (sự phát sinh từ trường = 295 nm; bức xạ điện từ = 340 nm, tần số 16 nm) ở 25 °C của 20 nM kháng thể kháng kháng nguyên (dạng Fab) trong PBS, pH 7,2, với sự có mặt của các nồng độ tăng cường của kháng nguyên như được đo bằng quang phổ kế, như máy đo ảnh phổ được trang bị dòng ngừng (Aviv Instruments) hoặc máy đo ảnh phổ A 8000-series SLM-AMINCO ™ (ThermoSpectronic) với cuvet chuyển động.

2. Các mảnh kháng thể

Theo các phương án đã biết, kháng thể được cung cấp ở đây là mảnh kháng thể. Các mảnh kháng thể này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phần Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv, và ScFv, và các phần khác được mô tả dưới đây. Khi xem xét về các mảnh kháng thể cụ thể, xem Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Khi xem xét về các mảnh scFv, xem, ví dụ, Pluckthun, trong The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg và Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); cũng xem, WO 1993/16185; và các patent Hoa Kỳ số 5,571,894 và 5,587,458. Để thảo luận về các mảnh Fab và $F(ab')_2$ bao gồm thụ thể tận dụng gắn kết các gốc epitop và có chu kỳ bán thải *in vivo* đã tăng cường, xem patent Hoa Kỳ số 5,869,046.

Các diabody là các mảnh kháng thể với hai vị trí kháng nguyên-gắn kết mà có thể là hóa trị hai hoặc đặc hiệu kép. Xem, ví dụ, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); và Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993). Các thể tria và các thể tetra cũng được mô tả ở Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003).

Các kháng thể miền đơn là các mảnh kháng thể bao gồm toàn bộ hoặc một phần của chuỗi nặng miền biến đổi hoặc toàn bộ hoặc một phần của chuỗi nhẹ miền biến đổi của một kháng thể. Theo các phương án đã biết, kháng thể miền

đơn là kháng thể miền đơn người (Domantis, Inc., Waltham, MA; xem, ví dụ, patent Hoa Kỳ số 6,248,516 B1).

Các mảnh kháng thể có thể được tạo ra bởi các kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở khả năng phân cắt phân giải protein của một kháng thể nguyên vẹn cũng như việc sản xuất bằng sự tái tổ hợp các tế bào chủ (ví dụ, *E. coli* hoặc thể thực khuẩn), như được mô tả ở đây.

3. Các kháng thể khảm và kháng thể được làm tương thích với người

Theo các phương án đã biết, kháng thể được đề cập ở đây là kháng thể khảm. Các kháng thể khảm cụ thể được mô tả, ví dụ, trong patent Hoa Kỳ số 4,816,567; và Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)). Theo một Ví dụ, kháng thể khảm bao gồm vùng biến đổi không phải người (ví dụ, vùng biến đổi có nguồn gốc từ chuột, họ chuột, chuột hamster, thỏ, hoặc động vật linh trưởng không phải người, như khỉ) và vùng ổn định người. Theo một Ví dụ nữa, kháng thể khảm là kháng thể "được chuyển lớp" trong đó lớp hoặc lớp phụ đã từng được thay đổi từ đó của kháng thể thể mẹ. Các kháng thể khảm bao gồm các mảnh gắn kết với kháng nguyên của chúng.

Theo các phương án đã biết, kháng thể khảm là kháng thể được làm tương thích với người. Điển hình là, kháng thể không phải người được làm tương thích với người để giảm tính sinh miễn dịch với người, trong khi vẫn giữ được tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể không phải người thể mẹ. Nhìn chung, kháng thể được làm tương thích với người bao gồm một hoặc nhiều miền biến đổi trong đó các HVR, ví dụ, các CDR, (hoặc các phần của chúng) có nguồn gốc từ kháng thể không phải người, và các FR (hoặc các phần của chúng) có nguồn gốc từ các trình tự kháng thể người. Kháng thể được làm tương thích với người tùy ý cũng sẽ bao gồm ít nhất một phần của vùng ổn định người. Theo một số phương án, một vài gốc FR trong kháng thể được làm tương thích với người được thế với các gốc tương ứng từ kháng thể không phải người (ví dụ, kháng thể từ đó các gốc HVR

được bắt nguồn), ví dụ, để khôi phục hoặc cải thiện tính đặc hiệu hoặc ái lực của kháng thể.

Các kháng thể được làm tương thích với người và các phương pháp tạo ra chúng được xem xét lại, ví dụ, trong Almagro, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008), và được mô tả thêm, ví dụ, trong Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); các patent Hoa Kỳ số 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321, và 7,087,409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (mô tả vùng xác định đặc trưng (SDR) kỹ thuật ghép); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (mô tả "tái tạo bề mặt"); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (mô tả "bố trí lại FR "); và Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) và Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (mô tả phương pháp "lựa chọn được hướng dẫn" để bố trí lại FR).

Các vùng khung người mà có thể được sử dụng để làm tương thích với người bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các vùng khung được chọn sử dụng phương pháp "thích hợp nhất" (xem, ví dụ, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); các vùng khung có nguồn gốc từ trình tự liên ứng của các kháng thể người của nhóm phụ cụ thể của các vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nặng (xem, ví dụ, Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285 (1992); và Presta et al. J. Immunol. 151:2623 (1993)); các vùng khung người trưởng thành (đột biến soma) hoặc các vùng khung dòng mầm người (xem, ví dụ, Almagro và Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); và các vùng khung có nguồn gốc từ các thư viện sàng lọc FR (xem, ví dụ, Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) and Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)).

4. Các kháng thể người

Theo các phương án đã biết, kháng thể được đề cập theo sáng chế là kháng thể người. Các kháng thể người có thể được sản xuất sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kháng thể người nhìn chung được

mô tả trong Van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-374 (2001) và Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008).

Các kháng thể người có thể được sản xuất bằng việc cung cấp kháng nguyên cho động vật chuyển gen mà đã được biến đổi để sản xuất kháng thể người nguyên vẹn hoặc các kháng thể nguyên vẹn với các vùng biến đổi người đáp ứng với việc tiếp xúc kháng nguyên. Các động vật này điển hình chứa toàn bộ hoặc một phần của vị trí gen globulin miễn dịch người, mà thay thế vị trí gen globulin miễn dịch nội sinh, hoặc chúng có mặt bên ngoài nhiễm sắc thể hoặc được tích hợp ngẫu nhiên trong các nhiễm sắc thể của động vật. Trong chuột chuyển gen này, vị trí gen globulin miễn dịch nội sinh nhìn chung chưa từng được hoạt hóa. Đối với việc xem xét về các phương pháp để thu được các kháng thể người từ các động vật chuyển gen, xem Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005). Cũng xem, ví dụ, các patent Hoa Kỳ số 6,075,181 và 6,150,584 mô tả kỹ thuật XENORATE™; patent Hoa Kỳ số 5,770,429 mô tả kỹ thuật HUMAB (nhãn hiệu được đăng ký); patent Hoa Kỳ số 7,041,870 mô tả kỹ thuật K-M RATE (nhãn hiệu được đăng ký), và công bố đơn patent Hoa Kỳ số US 2007/0061900, mô tả kỹ thuật VELOCIMOUSE (nhãn hiệu được đăng ký)). Các vùng biến đổi người từ các kháng thể nguyên vẹn được phát sinh bởi các động vật này có thể còn được biến đổi, ví dụ, bằng cách kết hợp với vùng người ổn định khác.

Các kháng thể người cũng có thể được tạo ra bởi các phương pháp dựa trên tế bào lai. Tế bào u tủy người và các dòng tế bào dị u tủy xương chuột-người để sản xuất các kháng thể người đơn dòng cũng đã được mô tả. (Xem, ví dụ, Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); và Boerner et al., J. Immunol. 147:86 (1991).) Các kháng thể người được tạo ra nhờ kỹ thuật tế bào lai tế bào B người cũng được mô tả trong Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-3562 (2006). Các phương pháp bổ sung bao gồm các phương pháp được mô tả, ví dụ, trong patent Hoa Kỳ số 7,189,826 (mô tả việc sản xuất của các kháng thể IgM người đơn dòng từ các dòng tế bào tế bào lai) và

Ni, Xiandai Mianyixue 26(4):265-268 (2006) (mô tả các tế bào lai người-người). Kỹ thuật tế bào lai người (kỹ thuật Trioma) cũng được mô tả ở Vollmers and Brandlein, Histology và Histopathology 20(3):927-937 (2005) và Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-191 (2005).

Các kháng thể người cũng có thể được tạo ra bằng cách phân lập các trình tự miền biến đổi dòng vô tính Fv được chọn từ các thư viện biểu hiện thực khuẩn thể có nguồn gốc từ người. Các trình tự miền biến đổi này sau đó có thể được kết hợp với miền ổn định người được mong đợi. Các kỹ thuật để chọn lựa các kháng thể người từ các thư viện kháng thể được mô tả dưới đây.

5. Các kháng thể có nguồn gốc thư viện

Các kháng thể theo sáng chế có thể là được phân lập bằng cách sàng lọc các thư viện tổ hợp đối với các kháng thể với hoạt tính hoặc độ hoạt động được mong đợi. Ví dụ, nhiều phương pháp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để tạo ra thư viện biểu hiện thể thực khuẩn và sàng lọc các thư viện đối với các kháng thể sở hữu các đặc tính gắn kết được mong đợi. Các phương pháp này được xem, ví dụ, trong Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (2000); O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) và được mô tả thêm, ví dụ, trong McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); và Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004).

Trong các phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn cụ thể, các mục của các gen VH và VL được nhân dòng riêng lẻ bởi chuỗi phản ứng polymeaza (PCR) và được tái tổ hợp ngẫu nhiên trong các thư viện thể thực khuẩn, mà sau đó có thể được sàng lọc đối với thể thực khuẩn gắn kết kháng nguyên như được mô tả trong Winter et al., Ann. Rev. Immunol. 12:433-455 (1994). Thể thực khuẩn biểu hiện đặc thù các mảnh kháng thể, hoặc như các phần Fv chuỗi đơn (scFv) hoặc như

các phần Fab. Các thư viện từ các nguồn được gây miễn dịch cung cấp các kháng thể ái lực cao với chất kháng nguyên không có yêu cầu về việc tạo cấu trúc các tế bào lai. Ngoài ra, mục được đem ra làm thử nghiệm có thể được tách dòng (ví dụ, từ người) để cung cấp nguồn riêng lẻ các kháng thể đến phạm vi mở rộng của các kháng nguyên không cùng loại và cùng loại mà không tạo miễn dịch bất kỳ như được mô tả bởi Griffiths et al., EMBO J, 12:725-734 (1993). Cuối cùng, các thư viện được đem ra làm thử nghiệm cũng có thể được thực hiện nhân tạo bằng cách nhân dòng các đoạn gen V không được tái sắp xếp từ các tế bào gốc, và sử dụng các gốc đơn nguyên tố PCR chứa trình tự ngẫu nhiên để mã hóa các vùng CDR3 biến đổi cao và để hoàn thành sự bố trí lại *in vitro*, như được mô tả bởi Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227:381-388 (1992). Các công bố patent mô tả các thư viện thể thực khuẩn kháng thể người bao gồm, ví dụ: patent Hoa Kỳ số 5,750,373, và các công bố đơn Hoa Kỳ số 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, và 2009/0002360.

Các kháng thể hoặc các mảnh kháng thể được phân lập từ các thư viện kháng thể người được coi là các kháng thể người hoặc các mảnh kháng thể người theo sáng chế.

6. Các kháng thể đa đặc hiệu

Theo các phương án đã biết, kháng thể được đề cập theo sáng chế là kháng thể đa đặc hiệu, ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép. Các kháng thể đa đặc hiệu là các kháng thể đơn dòng mà có tính đặc hiệu liên kết đối với ít nhất hai vị trí khác nhau. Theo các phương án đã biết, kháng thể này liên kết đặc hiệu với myostatin và gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên bất kỳ khác. Theo các phương án đã biết, các kháng thể đặc hiệu kép có thể gắn kết với hai epitop khác nhau của myostatin. Các kháng thể đặc hiệu kép cũng có thể được sử dụng để định vị tác nhân gây hại các tế bào với các tế bào biểu hiện myostatin. Các kháng thể đặc hiệu kép có thể được điều chế như kháng thể có chiều dài toàn vẹn hoặc các mảnh kháng thể.

Các kỹ thuật để tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự đồng biểu hiện tái tổ hợp của hai cặp chuỗi nặng globulin miễn

dịch-chuỗi nhẹ có các tính đặc hiệu khác nhau (xem, Milstein và Cuello, Nature 305:537 (1983)), WO 1993/08829, và Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)), và kỹ thuật "chìa khóa trong ổ khóa" (xem, ví dụ, patent Hoa Kỳ số 5,731,168). Các kháng thể đa đặc hiệu cũng có thể được tạo ra bởi kỹ thuật các hiệu quả khuấy tĩnh điện học để tạo ra các phân tử Fc dạng homodime (WO 2009/089004A1); liên kết chéo hai hoặc nhiều kháng thể hoặc các phần (xem, ví dụ, patent Hoa Kỳ số 4,676,980, và Brennan et al., Science, 229:81 (1985)); sử dụng các dây kéo leuxin để sản xuất các kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)); sử dụng kỹ thuật "diabody" để tạo ra các mảnh kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)); và sử dụng các homodime chuỗi đơn Fv (sFv) (xem,Ví dụ, Gruber et al., J. Immunol. 152:5368 (1994)); và điều chế các kháng thể ba đặc hiệu như được mô tả, ví dụ, trong Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991).

Các kháng thể biến đổi với ba hoặc nhiều hơn ba vị trí gắn kết kháng nguyên chức, bao gồm "các kháng thể bạch tuộc" cũng được bao gồm ở đây (xem, ví dụ, US 2006/0025576A1).

Kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế cũng bao gồm "Fab hoạt động kép" hoặc "DAF" bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên gắn kết với myostatin cũng như với loại khác, kháng nguyên khác (xem, đơn patent Hoa Kỳ số US 2008/0069820, để làm ví dụ).

7. Các biến thể kháng thể

Theo các phương án đã biết, sáng chế dự tính đến cả các biến thể trình tự axit amin của các kháng thể được đề cập này. Ví dụ, nó có thể được mong đợi để cải thiện ái lực gắn kết và/hoặc các đặc tính sinh học khác của kháng thể. Các biến thể trình tự axit amin của một kháng thể có thể được tạo ra bằng cách đưa vào các biến đổi thích hợp trong trình tự nucleotit mã hóa kháng thể, hoặc bằng cách tổng hợp peptit. Các biến đổi này bao gồm, ví dụ, loại bỏ từ, và/hoặc chèn vào trong và/hoặc các sự thay thế các gốc trong các trình tự axit amin của kháng thể. Sự kết hợp bất kỳ của sự loại bỏ, sự chèn, và sự thay thế có thể được thực hiện để thu

được cấu trúc cuối, được cung cấp để cấu trúc cuối cùng sở hữu các đặc tính được mong đợi, ví dụ, sự gắn kết kháng nguyên.

a. Sự thay thế, chèn, và loại bỏ các biến thể

Theo các phương án đã biết, các biến thể kháng thể có một hoặc nhiều các sự thay thế axit amin được cung cấp. Các vị trí liên quan đối với quá trình đột biến thay thế bao gồm các HVR và các FR. Các sự thay thế bảo tồn được thể hiện ở Bảng 1 dưới tiêu đề "Các sự thay thế thích hợp". Thay đổi chi tiết hơn được cung cấp ở Bảng 1 dưới tiêu đề "Các sự thay thế được lấy làm ví dụ" và như được mô tả chi tiết hơn bên dưới khi tham khảo các lớp chuỗi bên axit amin. Các sự thay thế axit amin có thể được đưa vào trong kháng thể liên quan và các sản phẩm được sàng lọc đối với hoạt tính mong muốn, ví dụ, gắn kết kháng nguyên được duy trì/ được cải thiện, giảm tính sinh miễn dịch, hoặc ADCC hoặc CDC được cải thiện.

Bảng 1

Gốc ban đầu	Các thay thế được lấy làm ví dụ	Thay thế ưu tiên
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleuxin	Leu
Leu (L)	Norleuxin; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr

Gốc ban đầu	Các thay thế được lấy làm ví dụ	Thay thế ưu tiên
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleuxin	Leu

Các axit amin có thể là được hợp thành nhóm theo các đặc tính chuỗi bên thông thường: (1) kỵ nước: Norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) ưa nước trung tính: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) tính axit: Asp, Glu; (4) tính bazơ: His, Lys, Arg; (5) các gốc có tác dụng định hướng chuỗi: Gly, Pro; và (6) thơm: Trp, Tyr, Phe. Các sự thay thế không bảo tồn sẽ cần có sự trao đổi của một thành viên của một trong số các nhóm này với một thành viên của một nhóm khác.

Một kiểu của biến thể thay thế bao gồm việc thay thế một hoặc nhiều gốc vùng siêu biến đổi của kháng thể thể mẹ (ví dụ, kháng thể được làm tương thích với người hoặc người). Nhìn chung, các biến thể tạo ra được chọn để nghiên cứu thêm sẽ có các biến đổi (ví dụ, các sự cải thiện) về các đặc tính sinh học nhất định (ví dụ, tăng ái lực, giảm tính sinh miễn dịch) tương ứng với kháng thể thể mẹ và/hoặc sẽ có các đặc tính sinh học nhất định cơ bản của kháng thể mẹ được duy trì. Biến thể thay thế được lấy làm ví dụ là kháng thể trưởng thành ái lực, mà có thể được tạo ra theo cách thông thường, ví dụ, sử dụng các kỹ thuật trưởng thành ái lực dựa vào biểu hiện thể thực khuẩn như được mô tả ở đây. Tóm lại, một hoặc nhiều gốc HVR được biến đổi và các kháng thể biến thể được biểu hiện trên thể thực khuẩn và được sàng lọc đối với hoạt tính sinh học cụ thể (ví dụ, ái lực gắn kết).

Các sự biến đổi (ví dụ, các sự thay thế) có thể được tạo ra trong các HVR, ví dụ, để cải thiện ái lực kháng thể. Các sự biến đổi này có thể được tạo ra trong HVR "các điểm nóng," tức là, các gốc được mã hóa bởi các mã bộ ba trải qua sự đột biến thường xuyên ở mức cao trong suốt quá trình trưởng thành của cơ thể (xem, ví dụ, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)), và/hoặc các gốc tiếp xúc kháng nguyên, với việc tạo ra biến thể VH hoặc VL đang được thử

nghiệm đối với ái lực gắn kết. Sự trưởng thành ái lực bằng cách tạo cấu trúc và sự chọn lựa lại từ các thư viện thứ cấp đã từng được mô tả, ví dụ, trong Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).) Theo một số phương án của sự trưởng thành ái lực, sự khác biệt được đưa vào trong các gen biến đổi được chọn đối với sự trưởng thành bởi nhiều phương pháp bất kỳ (ví dụ, PCR tạo lỗi, sự bố trí lại chuỗi, hoặc quá trình đột biến được hướng vào oligonucleotit). Sau đó, thư viện thứ cấp được tạo ra. Tiếp đó, thư viện được sàng lọc để nhận dạng các biến thể kháng thể bất kỳ với ái lực được mong đợi. Phương pháp khác để đưa vào sự khác biệt bao gồm các phương pháp tiếp cận điểm HVR, trong đó một vài gốc HVR (ví dụ, các gốc 4-6 đồng thời) được đưa vào ngẫu nhiên. Các gốc HVR được bao gồm trong gắn kết kháng nguyên có thể được xác định cụ thể, ví dụ, sử dụng quá trình đột biến hoặc bắt chước quét alanin. Cụ thể, thường hướng đích CDR-H3 và CDR-L3.

Theo các phương án đã biết, các sự thay thế, chèn vào, hoặc loại bỏ có thể xuất hiện trong một hoặc nhiều HVR với điều kiện là các sự biến đổi này về cơ bản không làm giảm khả năng của kháng thể để gắn kết kháng nguyên. Ví dụ, các sự biến đổi bảo tồn (ví dụ, các sự thay thế bảo tồn như được cung cấp ở đây) mà về cơ bản không làm giảm ái lực gắn kết có thể được tạo ra trong các HVR. Các sự biến đổi này có thể, ví dụ, bên ngoài của kháng nguyên tiếp xúc các gốc trong các HVR. Theo các phương án đã biết của biến thể trình tự VH và VL được đề cập ở trên, mỗi HVR hoặc không được biến đổi, hoặc chứa không nhiều hơn một, hai hoặc ba sự thay thế axit amin.

Phương pháp hữu ích để nhận dạng các gốc hoặc các vùng của một kháng thể mà có thể là đích cho quá trình đột biến được gọi là "gây đột biến quét alanin" như được mô tả bởi Cunningham và Wells (1989) Science 244:1081-1085. Theo phương pháp này, gốc hoặc nhóm của các gốc đích (ví dụ, các gốc mang điện tích như arg, asp, his, lys, và glu) được đồng nhất và được thay thế bằng axit amin trung tính hoặc mang điện tích âm (ví dụ, alanin hoặc polyalanin) để xác định xem sự tương tác của kháng thể với kháng nguyên bị ảnh hưởng hay không. Các sự

thay thế hơn nữa có thể được đưa vào ở các vùng axit amin biểu hiện tính mẫn cảm về mặt chức năng với các sự thay thế ban đầu. Ngoài ra, hoặc bổ sung, cấu trúc tinh thể của phức hợp kháng nguyên-kháng thể có thể được phân tích để xác định các điểm tiếp xúc giữa kháng thể và kháng nguyên. Các gốc tiếp xúc như vậy có thể là các gốc bên cạnh có thể là đích hoặc xem như các ứng viên thay thế. Các biến thể có thể được sàng lọc để xác định dù chúng chứa các đặc tính mong muốn.

Trình tự axit amin chèn vào bao gồm các dung hợp đầu amino- và/hoặc carboxyl- nằm dọc theo chiều dài từ một gốc đến các polypeptit chứa một trăm gốc hoặc nhiều hơn, cũng như các sự chèn vào nội trình tự của các gốc axit amin riêng lẻ hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về chèn vào đầu bao gồm kháng thể với gốc methionyl đầu N. Các biến thể chèn khác của phân tử kháng thể bao gồm sự dung hợp cho đầu N hoặc C của kháng thể cho enzym (ví dụ, đối với ADEPT) hoặc polypeptit mà tăng cường chu kỳ bán thải huyết thanh của kháng thể.

b. Các biến thể glycosyl hóa

Theo các phương án đã biết, kháng thể được cung cấp ở đây được biến đổi để tăng cường hoặc giảm quy mô để trong đó kháng thể được glycosyl hóa. Bổ sung hoặc loại bỏ các vị trí glycosyl hóa đến kháng thể có thể được hoàn thành theo cách thông thường bằng cách làm biến đổi trình tự axit amin để một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa được tạo ra hoặc được loại bỏ.

Trong kháng thể bao gồm vùng Fc, cacbohydrat được gắn kèm thêm có thể được biến đổi. Các kháng thể tự nhiên được sản xuất bởi các tế bào động vật có vú điển hình bao gồm oligosaccarit hai nhánh, được phân nhánh mà nhìn chung được gắn kèm bởi liên kết N đến Asn297 của miền CH2 của vùng Fc. Xem, ví dụ, Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997). Oligosaccarit có thể bao gồm các cacbohydrat khác nhau, ví dụ, mannoza, N-axetyl glucosamin (GlcNAc), galactoza, và axit sialic, cũng như đường fucoza được gắn với GlcNAc trong "mầm" của cấu trúc oligosaccarit hai nhánh. Theo một số phương án, các biến đổi

của oligosaccarit trong kháng thể theo sáng chế có thể được thực hiện để tạo ra các biến thể kháng thể với các đặc tính được cải thiện cụ thể.

Theo một phương án, các biến thể kháng thể được đề cập có cấu trúc cacbohydrat thiếu đường fucoza được gắn kèm (trực tiếp hoặc gián tiếp) đến vùng Fc. Ví dụ, số lượng của đường fucoza trong kháng thể này có thể là từ 1% đến 80%, từ 1% đến 65%, từ 5% đến 65% hoặc từ 20% đến 40%. Số lượng gốc đường fucoza được xác định bằng cách tính số lượng trung bình của gốc đường fucoza trong chuỗi đường ở Asn297, tương ứng với tổng của tất cả các cấu trúc glyco được gắn với Asn 297 (ví dụ, phức hợp, vật lai và các cấu trúc mannoza cao) như được đo bằng phép đo phổ khối MALDI-TOF, như được mô tả ở WO 2008/077546, ví dụ. Asn297 đề cập đến gốc asparagin được tìm thấy ở khoảng vị trí 297 trong vùng Fc (Hệ đánh số châu Âu của các gốc vùng Fc); tuy nhiên, Asn297 cũng có thể được tìm thấy ở khoảng +/- 3 các axit amin ngược dòng hoặc xuôi dòng của vị trí 297, tức là, giữa các vị trí 294 và 300, do các sự biến đổi trình tự nhỏ hơn trong các kháng thể. Các biến thể fucosyl hóa này có thể được cải thiện chức năng ADCC. Xem, ví dụ, các công bố đơn patent Hoa Kỳ số US 2003/0157108 (Presta, L.); đơn patent hoa Kỳ số US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Các ví dụ về các công bố liên quan đến các biến thể kháng thể "được defucosyl hóa" hoặc "thiếu hụt đường fucoza" bao gồm: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO 2005/053742; WO 2002/031140; Okazaki et al., J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87:614 (2004). Các ví dụ về các dòng tế bào có khả năng sản xuất các kháng thể được defucosyl hóa bao gồm các tế bào Lec13 CHO thiếu fucosyl hóa protein (Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); Công bố đơn patent Hoa Kỳ số US 2003/0157108 A1, Presta, L; và WO 2004/056312, Adams et al., cụ thể là ở Ví dụ 11), và các dòng tế bào loại bỏ gen, như gen alpha-1,6-

fucosyltransferaza, FUT8, các tế bào CHO loại bỏ gen (xem, ví dụ, Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87:614 (2004); Kanda et al., Biotechnol. Bioeng. 94(4):680-688 (2006); và WO 2003/085107).

Các biến thể kháng thể còn được cung cấp với các oligosaccarit cắt đôi, ví dụ, trong đó oligosaccarit hai nhánh được gắn với vùng Fc của kháng thể được cắt đôi bằng GlcNAc. Các biến thể kháng thể này có thể có sự fucosyl hóa được giảm và/hoặc chức năng ADCC được cải thiện. Các ví dụ về các biến thể kháng thể này được mô tả, ví dụ, trong WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); patent Hoa Kỳ số 6,602,684 (Umana et al.); và đơn patent Hoa Kỳ số 2005/0123546 (Umana et al.). Các biến thể kháng thể với ít nhất một gốc galactoza trong oligosaccarit được gắn với vùng Fc cũng được cung cấp. Các biến thể kháng thể này có thể có chức năng CDC được cải thiện. Các biến thể kháng thể này được mô tả, ví dụ, trong WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); và WO 1999/22764 (Raju, S.).

c. Các biến thể vùng Fc

Theo các phương án đã biết, một hoặc nhiều các biến đổi axit amin có thể được đưa vào trong vùng Fc của một kháng thể được cung cấp ở đây, nhờ đó tạo ra vùng biến thể Fc. Vùng biến thể Fc có thể bao gồm trình tự vùng Fc người (ví dụ, vùng Fc IgG1 người, IgG2, IgG3 hoặc IgG4) bao gồm sự biến đổi axit amin (ví dụ, sự thay thế) ở một hoặc nhiều vị trí axit amin.

Theo các phương án đã biết, sáng chế đề cập đến kháng thể biến thể sở hữu một vài, nhưng không phải tất cả các chức năng phản ứng, mà làm cho nó trở thành ứng viên mong muốn đối với các ứng dụng trong đó chu kỳ bán thải của kháng thể *in vivo* là quan trọng ngay cả các chức năng phản ứng cụ thể (như bổ thể và ADCC) là không cần thiết hoặc có hại. Các thử nghiệm hiện tượng gây độc tế bào *in vitro* và/hoặc *in vivo* có thể được thực hiện để xác nhận sự giảm bớt/sự suy yếu của các hoạt tính CDC và/hoặc ADCC. Ví dụ, các thử nghiệm gắn kết thụ thể Fc (FcR) có thể được thực hiện để bảo đảm rằng kháng thể thiếu gắn kết Fc

gama R (sau đây phù hợp như việc thiếu hoạt tính ADCC), nhưng duy trì khả năng gắn kết FcRn. Các tế bào sơ cấp để làm trung gian ADCC, các tế bào NK, chỉ biểu hiện Fc gama RIII, trong khi các bạch cầu đơn nhân to biểu hiện cả Fc gama RI, Fc gama RII và Fc gama RIII. Sự biểu hiện FcR trên các tế bào tạo huyết được tóm tắt ở Bảng 3 trang 464 của Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991). Các ví dụ không giới hạn của các thử nghiệm *in vitro* để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử liên quan được mô tả trong patent Hoa Kỳ số 5,500,362 (xem, ví dụ, Hellstrom, et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) và Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (xem Bruggemann, et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)). Ngoài ra, các phương pháp thử nghiệm không phóng xạ có thể được sử dụng (xem, ví dụ, thử nghiệm hiện tượng gây độc tế bào không phóng xạ ACTI™ đối với việc đếm tế bào dòng (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); và CytoTox 96 (nhãn hiệu được đăng ký) thử nghiệm hiện tượng gây độc tế bào không phóng xạ (Promega, Madison, WI)). Các tế bào tác động hữu ích đối với các thử nghiệm này bao gồm các tế bào đơn nhân huyết tương ngoại vi (PBMC) và các tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK). Ngoài ra, hoặc bổ sung thêm, hoạt tính ADCC của phân tử liên quan có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, trong mẫu động vật như đã được bộc lộ trong Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998). Các thử nghiệm gắn kết C1q cũng có thể được thực hiện để xác nhận rằng kháng thể là không thể gắn kết C1q và do đó thiếu hoạt tính CDC. Xem, ví dụ, gắn kết ELISA C1q và C3c trong WO 2006/029879 và WO 2005/100402. Để đánh giá sự hoạt hóa bổ thể, thử nghiệm CDC có thể được thực hiện (xem, ví dụ, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg et al., Blood 101:1045-1052 (2003); và Cragg, Blood 103:2738-2743 (2004)). Gắn kết FcRn và các sự xác định sự đào thải/chu kỳ bán thải *in vivo* cũng có thể được thực hiện sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Petkova et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)).

Các kháng thể với chức năng tác động giảm bao gồm các kháng thể với sự thay thế của một hoặc nhiều của các gốc vùng Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 và 329 (patent Hoa Kỳ số 6,737,056). Các đột biến Fc này bao gồm các đột biến Fc với các sự thay thế ở hai hoặc nhiều vị trí axit amin 265, 269, 270, 297 và 327, bao gồm cũng được gọi là "DANA" Fc đột biến với sự thay thế của các gốc 265 và 297 thành alanin (patent Hoa Kỳ số 7,332,581).

Các biến thể kháng thể đã biết với việc gắn kết được cải thiện hoặc được giảm bớt với các FcR được mô tả. (Xem, ví dụ, patent Hoa Kỳ số 6,737,056; WO 2004/056312, và Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001).)

Theo các phương án đã biết, kháng thể biến thể bao gồm vùng Fc với một hoặc nhiều sự thay thế axit amin mà cải thiện ADCC, ví dụ, các sự thay thế tại các vị trí 298, 333, và/hoặc 334 của vùng Fc (hệ đánh số EU).

Theo một số phương án, các sự biến đổi được tạo ra ở vùng Fc mà dẫn tới được biến đổi (tức là, hoặc được cải thiện hoặc được giảm bớt) gắn kết C1q và/hoặc hiện tượng gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), ví dụ, như được mô tả ở patent Hoa Kỳ số 6,194,551, WO 1999/51642, và Idusogie et al., J. Immunol. 164:4178-4184 (2000).

Các kháng thể với các chu kỳ bán thải đã tăng cường và việc gắn kết được cải thiện với thụ thể Fc trẻ sơ sinh (FcRn), mà chịu trách nhiệm truyền IgG từ mẹ sang bào thai (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), được mô tả ở US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Các kháng thể này bao gồm vùng Fc với một hoặc nhiều sự thay thế trong đó cải thiện gắn kết của vùng Fc với FcRn. Các biến thể Fc này bao gồm các biến thể với các sự thay thế ở một hoặc nhiều các gốc vùng Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 hoặc 434, ví dụ, sự thay thế của gốc vùng Fc 434 (patent Hoa Kỳ số 7,371,826). Cũng xem, Duncan, Nature 322:738-40 (1988); patent Hoa Kỳ số 5,648,260 và 5,624,821; và WO 1994/29351 liên quan đến các ví dụ khác của các biến thể vùng Fc.

d. Các biến thể kháng thể biến đổi xystein

Theo các phương án đã biết, có thể đáng mong đợi để tạo ra các kháng thể biến đổi xystein, ví dụ, "các thioMAb" trong đó một hoặc nhiều gốc của một kháng thể được thế bằng các gốc xystein. Các phương án cụ thể là, các gốc được thế xảy ra ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể. Bằng cách thay thế các gốc này bằng xystein, các nhóm thiol phản ứng nhờ đó được định vị ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể và có thể được sử dụng để tiếp hợp kháng thể với các gốc khác, như các gốc thuốc hoặc các gốc thuốc cầu nối, để tạo ra tiếp hợp miễn dịch, như được mô tả thêm ở đây. Theo các phương án đã biết, một hoặc nhiều gốc bất kỳ dưới đây có thể được thế bằng xystein: V205 (hệ đánh số Kabat) của chuỗi nhẹ; A118 (hệ đánh số EU) của chuỗi nặng; và S400 (hệ đánh số EU) của chuỗi nặng vùng Fc. Các kháng thể biến đổi xystein có thể được phát sinh như được mô tả, ví dụ, trong patent Hoa Kỳ số 7,521,541.

e. Các dẫn xuất kháng thể

Theo các phương án đã biết, kháng thể được cung cấp ở đây có thể còn được biến đổi để chứa các gốc không có protein bổ sung mà là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là có sẵn. Các gốc phù hợp đối với sự dẫn xuất hóa của kháng thể bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các polyme hòa tan trong nước. Các ví dụ không giới hạn về các polyme hòa tan trong nước bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyetylen glycol (PEG), các copolyme của etylen glycol/propylen glycol, cacboxymetylxenluloza, dextran, rượu polyvinyl, polyvinyl pyrolidon, poly-1, 3-dioxolan, poly-1,3,6-trioxan, etylen/maleic anhydrit copolyme, các axit polyamin (hoặc các homopolyme hoặc các copolyme ngẫu nhiên), và dextran hoặc poly(n-vinyl pyrolidon)polyetylen glycol, các homopolyme polypropylen glycol, các co-polyme polypropylen oxit/etylen oxit, các polyol được polyoxyetyl hóa (ví dụ, glyxerol), rượu polyvinyl, và các hỗn hợp của chúng. Polyetylen glycol propionaldehyt có thể có các thuận lợi khi sản xuất do sự ổn định của nó trong nước. Polyme có thể có trọng lượng phân tử bất kỳ, và có thể được phân nhánh hoặc không được phân nhánh. Số lượng của các polyme được gắn với kháng thể

có thể khác nhau, và nếu nhiều hơn một polyme được gắn kèm, chúng có thể là các phân tử giống hoặc khác nhau. Nhìn chung, số và/hoặc kiểu của các polyme được sử dụng đối với sự dẫn xuất hóa có thể được xác định dựa vào các suy xét bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đặc tính cụ thể hoặc các chức năng cụ thể của kháng thể cần được cải thiện, dù dẫn xuất kháng thể sẽ được sử dụng trong điều trị theo các tình trạng được xác định hay không v.v..

Theo phương án khác, sự tiếp hợp của một kháng thể và gốc không có protein mà có thể được gia nhiệt để chọn lọc bằng cách tiếp xúc với liệu pháp bức xạ được cung cấp. Theo một phương án, gốc không có protein là các ống nano cacbon (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605 (2005)). Liệu pháp bức xạ có thể có bước sóng bất kỳ, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bước sóng không gây hại các tế bào bình thường, nhưng tại đó việc gia nhiệt gốc không có protein đến nhiệt độ mà tại đó các tế bào ở đầu gần với kháng thể-gốc không có protein bị loại bỏ.

8. Các vùng Fc biến đổi

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến polypeptit được phân lập bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là kháng thể. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo các phương án đã biết, vùng Fc biến đổi bao gồm ít nhất một sự biến đổi gốc axit amin (ví dụ, sự thay thế) so với trình tự tương ứng trong vùng Fc của trình tự biến thể tham chiếu hoặc tự nhiên (đôi khi còn được đề cập như vùng Fc "thể mẹ"). Theo các phương án đã biết, vùng Fc biến đổi theo sáng chế có hoạt tính gắn kết được tăng cường đối với Fc gama RIIb khỉ so với vùng Fc gốc. Các phương án cụ thể là, Fc gama RIIb khỉ là Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO: 223).

Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb khỉ]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb khỉ] có thể là 2,0 hoặc lớn hơn, 3,0 hoặc lớn hơn, 4,0 hoặc lớn hơn, 5,0 hoặc lớn hơn, 6,0

hoặc lớn hơn, 7,0 hoặc lớn hơn, 8,0 hoặc lớn hơn, 9,0 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, 15 hoặc lớn hơn, 20 hoặc lớn hơn, 25 hoặc lớn hơn, 30 hoặc lớn hơn, 40 hoặc lớn hơn, hoặc 50 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi có được giảm hoạt tính gắn kết đối với Fc gama RIIIa khỉ. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIIa khỉ]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa khỉ] có thể là 0,50 hoặc nhỏ hơn, 0,40 hoặc nhỏ hơn, 0,30 hoặc nhỏ hơn, 0,20 hoặc nhỏ hơn, 0,10 hoặc nhỏ hơn, 0,09 hoặc nhỏ hơn, 0,08 hoặc nhỏ hơn, 0,07 hoặc nhỏ hơn, 0,06 hoặc nhỏ hơn, 0,05 hoặc nhỏ hơn, 0,04 hoặc nhỏ hơn, 0,03 hoặc nhỏ hơn, 0,02 hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,01 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb khỉ có trình tự nêu trong SEQ ID NO:223 (khỉ xynomolgus). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIIa khỉ có trình tự nêu trong SEQ ID NO:224 (khỉ xynomolgus).

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi có hoạt tính gắn kết được tăng cường đối với Fc gama RIIb người. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb người]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb người] có thể là 2,0 hoặc lớn hơn, 3,0 hoặc lớn hơn, 4,0 hoặc lớn hơn, 5,0 hoặc lớn hơn, 6,0 hoặc lớn hơn, 7,0 hoặc lớn hơn, 8,0 hoặc lớn hơn, 9,0 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, 15 hoặc lớn hơn, 20 hoặc lớn hơn, 25 hoặc lớn hơn, 30 hoặc lớn hơn, 40 hoặc lớn hơn, hoặc 50 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi có hoạt tính gắn kết được giảm đối với Fc gama RIIIa người. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIIa người]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa người] có thể là 0,50 hoặc nhỏ hơn, 0,40 hoặc nhỏ hơn, 0,30 hoặc nhỏ hơn, 0,20 hoặc nhỏ hơn, 0,10 hoặc nhỏ hơn, 0,09 hoặc nhỏ hơn, 0,08 hoặc nhỏ hơn, 0,07 hoặc nhỏ hơn, 0,06 hoặc nhỏ hơn, 0,05 hoặc nhỏ hơn, 0,04 hoặc nhỏ hơn, 0,03 hoặc nhỏ hơn, 0,02 hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,01 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb người có trình tự nêu trong SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIIa người có trình tự nêu trong SEQ ID NO:215, 216, 217, hoặc 218.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi có hoạt tính gắn kết được giảm đối với Fc gama RIIa người (kiểu H) so với Fc gama RIIb người. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa người (kiểu H)]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu H)] có thể là 5,0 hoặc nhỏ hơn, 4,0 hoặc nhỏ hơn, 3,0 hoặc nhỏ hơn, 2,0 hoặc nhỏ hơn, 1,0 hoặc nhỏ hơn, 0,9 hoặc nhỏ hơn, 0,8 hoặc nhỏ hơn, 0,7 hoặc nhỏ hơn, 0,6 hoặc nhỏ hơn, 0,5 hoặc nhỏ hơn, 0,4 hoặc nhỏ hơn, 0,3 hoặc nhỏ hơn, 0,2 hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,1 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi có hoạt tính gắn kết được giảm đối với Fc gama RIIa người (kiểu R) so với Fc gama RIIb người. Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa người (kiểu R)]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu R)] có thể là 5,0 hoặc nhỏ hơn,4,0 hoặc nhỏ hơn, 3,0 hoặc nhỏ hơn, 2,0 hoặc nhỏ hơn, 1,0 hoặc nhỏ hơn, 0,9 hoặc nhỏ hơn, 0,8 hoặc nhỏ hơn, 0,7 hoặc nhỏ hơn, 0,6 hoặc nhỏ hơn, 0,5 hoặc nhỏ hơn, 0,4 hoặc nhỏ hơn, 0,3 hoặc nhỏ hơn, 0,2 hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,1 hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIa người (kiểu H) có trình tự nêu trong SEQ ID NO:211. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIa người (kiểu R) có trình tự nêu trong SEQ ID NO:210.

Theo các phương án đã biết, tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa khỉ]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa khỉ] có thể là 2,0 hoặc lớn hơn, 3,0 hoặc lớn hơn, 4,0 hoặc lớn hơn, 5,0 hoặc lớn hơn, 6,0 hoặc lớn hơn, 7,0 hoặc lớn hơn, 8,0 hoặc lớn hơn, 9,0 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, 15 hoặc lớn hơn, 20 hoặc lớn hơn, 25 hoặc lớn hơn, 30 hoặc lớn hơn, 40 hoặc lớn hơn, hoặc 50 hoặc lớn hơn. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIa khỉ được chọn từ Fc gama RIIa1 khỉ (ví dụ, Fc gama RIIa1 xynomolgus (SEQ ID NO:220)), Fc gama RIIa2 khỉ (ví dụ, Fc gama RIIa2 xynomolgus (SEQ ID NO:221)), và Fc gama RIIa3 khỉ (ví dụ, Fc gama RIIa3 xynomolgus (SEQ ID NO:222).

Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb khỉ có thể là 1,0 x 10^{-6} M hoặc nhỏ hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 5,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 4,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 3,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 2,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, hoặc 1,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa khỉ có thể là 5,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 1,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 5,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 6,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 7,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 8,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 9,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, hoặc 1,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb người có thể là 2,0 x 10^{-6} M hoặc nhỏ hơn, 1,0 x 10^{-6} M hoặc nhỏ hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 5,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 4,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 3,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 2,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, hoặc 1,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIIa người có thể là 1,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 3,0 x10^{-6} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 5,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 6,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 7,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 8,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 9,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 1,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn, hoặc 5,0 x 10^{-5} M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu H) có thể là 1,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 5,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 1,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, hoặc 5,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn. Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa người (kiểu R) có thể là 2,0 x 10^{-}

$^{-7}$ M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 5,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc lớn hơn, 1,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 2,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 3,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, 4,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn, hoặc 5,0 x 10^{-6} M hoặc lớn hơn.

Theo phương án khác, giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa khỉ có thể là 1,0 x 10^{-6} M hoặc nhỏ hơn, 9,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 8,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 7,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 6,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 5,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 4,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 3,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, 2,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, hoặc 1,0 x 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIa khỉ có thể được chọn từ bất kỳ trong số Fc gama RIIa1 khỉ, Fc gama RIIa2 khỉ, và Fc gama RIIa3 khỉ.

Khi phát triển sản phẩm dược phẩm để điều trị bệnh cho người, sự đánh giá về hiệu quả và sự an toàn của nó ở khỉ là quan trọng vì sự gần gũi về mặt sinh học của nó với người. Từ các quan điểm này, sản phẩm dược phẩm cần được phát triển là thích hợp để có độ phản ứng chéo với cả người và khỉ trong hoạt tính gắn kết đích.

"Các thụ thể Fc gama" (ở đây, được đề cập đến như các thụ thể Fc gama, Fc gama R hoặc FcgR) đề cập đến các thụ thể mà có thể gắn kết với vùng Fc của các kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4, và thực tế có nghĩa là thành viên bất kỳ của họ các protein được mã hóa bởi các gen thụ thể Fc gama. Ở người, họ này bao gồm Fc gama RI (CD64) bao gồm các đồng dạng Fc gama RIa, Fc gama RIb, và Fc gama RIc; Fc gama RII (CD32) bao gồm các đồng dạng Fc gama RIIa (bao gồm các kiểu quyết định kháng nguyên H131 (kiểu H) và R131 (kiểu R)), Fc gama RIIb (bao gồm Fc gama RIIb-1 và Fc gama RIIb-2), và Fc gama RIIc; và Fc gama RIII (CD16) bao gồm các đồng dạng Fc gama RIIIa (bao gồm các kiểu quyết định kháng nguyên V158 và F158), và Fc gama RIIIb (bao gồm các kiểu quyết định kháng nguyên Fc gama RIIIb-NA1 và Fc gama RIIIb-NA2), và các Fc gama R người bất kỳ, Fc gama R các đồng dạng hoặc các kiểu quyết định kháng

nguyên vẫn chưa từng được tìm ra, nhưng không chỉ giới hạn ở đó. Fc gama RIIb1 và Fc gama RIIb2 đã từng được báo cáo như các biến thể cắt ghép của Fc gama RIIb người. Ngoài ra, biến thể cắt ghép có tên gọi Fc gama RIIb3 đã từng được báo cáo (J Exp Med, 1989, 170: 1369-1385). Bổ sung cho các biến thể cắt ghép này, Fc gama RIIb người bao gồm tất cả các biến thể căt ghép được đăng ký trong NCBI, mà là NP_001002273,1, NP_001002274,1, NP_001002275,1, NP_001177757,1, và NP_003992,3. Hơn thế nữa, Fc gama RIIb người bao gồm tất cả tính đa hình di truyền được báo cáo trước đây, cũng như Fc gama RIIb (Arthritis Rheum. 48:3242-3252 (2003); Kono et al., Hum. Mol. Genet. 14:2881-2892 (2005); và Kyogoju et al., Arthritis Rheum. 46:1242-1254 (2002)), và tất cả tính đa dạng di truyền sẽ được báo cáo trong tương lai.

Trong Fc gama RIIa, có hai kiểu quyết định kháng nguyên, một axit amin trong đó tại vị trí 131 của Fc gama RIIa là histidin (kiểu H) và axit amin khác trong đó tại vị trí 131 được thế với arginin (kiểu R) (Warrmerdam, J. Exp. Med. 172:19-25 (1990)).

Fc gama R bao gồm các Fc gama R có nguồn gốc từ người, chuột, họ chuột, thỏ, và khỉ, nhưng không chỉ giới hạn ở đó, và có thể có nguồn gốc từ sinh vật bất kỳ. Các Fc gama R chuột bao gồm Fc gama RI (CD64), Fc gama RII (CD32), Fc gama RIII (CD16), và Fc gama RIII-2 (CD16-2), và các Fc gama R chuột bất kỳ, hoặc các đồng dạng Fc gama R, nhưng không chỉ giới hạn ở đó. Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ "Fc gama R khỉ" hoặc biến thể của chúng, đề cập đến Fc gama RIIa1 xynomolgus (SEQ ID NO:220), Fc gama RIIa2 (SEQ ID NO:221), Fc gama RIIa3 (SEQ ID NO:222), Fc gama RIIb (SEQ ID NO:223), hoặc Fc gama RIIIaS (SEQ ID NO:224).

Trình tự polynucleotit của Fc gama RI người được nêu trong SEQ ID NO: 199 (NM_000566,3); trình tự polynucleotit của Fc gama RIIa người được nêu trong SEQ ID NO: 200 (BC020823,1) hoặc SEQ ID NO:201 (NM_001136219,1); trình tự polynucleotit của Fc gama RIIb người được nêu trong SEQ ID NO: 202 (BC146678,1) hoặc SEQ ID NO:203 (NM_004001,3); trình tự polynucleotit của

Fc gama RIIIa người được nêu trong SEQ ID NO: 204 (BC033678,1) hoặc SEQ ID NO:205 (NM_001127593,1); và trình tự polynucleotit của Fc gama RIIIb người được nêu trong SEQ ID NO: 206 (BC128562,1).

Trình tự axit amin của Fc gama RI người được nêu trong SEQ ID NO: 207 (NP_000557,1); trình tự axit amin của Fc gama RIIa người được nêu trong SEQ ID NO: 208 (AAH20823,1), SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210 hoặc SEQ ID NO:211; trình tự axit amin của Fc gama RIIb người được nêu trong SEQ ID NO: 212 (AAI46679,1), SEQ ID NO: 213 hoặc SEQ ID NO:214; trình tự axit amin của Fc gama RIIIa người được nêu trong SEQ ID NO: 215 (AAH33678,1), SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217 hoặc SEQ ID NO:218; và trình tự axit amin của Fc gama RIIIb người được nêu trong SEQ ID NO: 219 (AAI28563,1).

Trình tự axit amin của Fc gama RIIa khỉ xynomolgus được nêu trong SEQ ID NO: 220 (Fc gama RIIa1), SEQ ID NO:221 (Fc gama RIIa2) hoặc SEQ ID NO:222 (Fc gama RIIa3); trình tự axit amin của Fc gama RIIb xynomolgus được nêu trong SEQ ID NO: 223; và trình tự axit amin của Fc gama RIIIa khỉ xynomolgus được nêu trong SEQ ID NO: 224.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit chứa các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường so với Fc gama RIIb-gắn kết polypeptit tham khảo tương ứng. Theo các khía cạnh khác nữa, polypeptit theo sáng chế bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b)

ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm sự biến đổi axit amin tại vị trí 236 theo hệ đánh số EU.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 235, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi bao gồm sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 235, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi bao gồm sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 268, 295, 326, và 330, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin bất kỳ nêu trong điểm sau: (1)-(37): (1) các vị trí 231, 236, 239, 268 và 330; (2) các vị trí 231, 236, 239, 268, 295 và 330; (3) các vị trí 231, 236, 268 và 330; (4) các vị trí 231, 236, 268, 295 và 330; (5) các vị trí 232, 236, 239, 268, 295 và 330; (6) các vị trí 232, 236, 268, 295 và 330; (7) các vị trí 232, 236, 268 và 330; (8) các vị trí 235, 236, 268, 295, 326 và 330; (9) các vị trí 235, 236,

268, 295 và 330; (10) các vị trí 235, 236, 268 và 330; (11) các vị trí 235, 236, 268, 330 và 396; (12) các vị trí 235, 236, 268 và 396; (13) các vị trí 236, 239, 268, 295, 298 và 330; (14) các vị trí 236, 239, 268, 295, 326 và 330; (15) các vị trí 236, 239, 268, 295 và 330; (16) các vị trí 236, 239, 268, 298 và 330; (17) các vị trí 236, 239, 268, 326 và 330; (18) các vị trí 236, 239, 268 và 330; (19) các vị trí 236, 239, 268, 330 và 396; (20) các vị trí 236, 239, 268 và 396; (21) các vị trí 236 và 268; (22) các vị trí 236, 268 và 295; (23) các vị trí 236, 268, 295, 298 và 330; (24) các vị trí 236, 268, 295, 326 và 330; (25) các vị trí 236, 268, 295, 326, 330 và 396; (26) các vị trí 236, 268, 295 và 330; (27) các vị trí 236, 268, 295, 330 và 396; (28) các vị trí 236, 268, 298 và 330; (29) các vị trí 236, 268, 298 và 396; (30) các vị trí 236, 268, 326 và 330; (31) các vị trí 236, 268, 326, 330 và 396; (32) các vị trí 236, 268 và 330; (33) các vị trí 236, 268, 330 và 396; (34) các vị trí 236, 268 và 396; (35) các vị trí 236 và 295; (36) các vị trí 236, 330 và 396; và (37) các vị trí 236 và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất một axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (a) Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 231; (b) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 232; (c) Asp tại vị trí 233; (d) Trp, Tyr tại vị trí 234; (e) Trp tại vị trí 235; (f) Ala, Asp, Glu, His, Ile, Leu, Met, Asn, Gln, Ser, Thr, Val tại vị trí 236; (g) Asp, Tyr tại vị trí 237; (h) Glu, Ile, Met, Gln, Tyr tại vị trí 238; (i) Ile, Leu, Asn, Pro, Val tại vị trí 239; (j) Ile tại vị trí 264; (k) Phe tại vị trí 266; (l) Ala, His, Leu tại vị trí 267; (m) Asp, Glu tại vị trí 268; (n) Asp, Glu, Gly tại vị trí 271; (o) Leu tại vị trí 295; (p) Leu tại vị trí 298; (q) Glu, Phe, Ile, Leu tại vị trí 325; (r) Thr tại vị trí 326; (s) Ile, Asn tại vị trí 327; (t) Thr tại vị trí 328; (u) Lys, Arg tại vị trí 330; (v) Glu tại vị trí 331; (w) Asp tại

vị trí 332; (x) Asp, Ile, Met, Val, Tyr tại vị trí 334; và (y) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin (ví dụ, sự thay thế) được chọn từ nhóm bao gồm: (a) Gly, Thr tại vị trí 231; (b) Asp tại vị trí 232; (c) Trp tại vị trí 235; (d) Asn, Thr tại vị trí 236; (e) Val tại vị trí 239; (f) Asp, Glu tại vị trí 268; (g) Leu tại vị trí 295; (h) Leu tại vị trí 298; (i) Thr tại vị trí 326; (j) Lys, Arg tại vị trí 330; và (k) Lys, Met tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asn tại vị trí 236, Glu tại vị trí 268, Lys tại vị trí 330, và Met tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Thr tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, Thr tại vị trí 326, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Trp tại

vị trí 235, Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, Thr tại vị trí 326, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm sự biến đổi axit amin tại vị trí 238 theo hệ đánh số EU.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 234, 238, 250, 264, 267, 307, và 330 theo hệ đánh số EU. Theo các phương án nữa, polypeptit bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 234, 250, 264, 267, 307, và 330 theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin bất kỳ nêu trong điểm (1)-(9) sau: (1) các vị trí 234, 238, 250, 307 và 330; (2) các vị trí 234, 238, 250, 264, 307 và 330; (3) các vị trí 234, 238, 250, 264, 267, 307 và 330; (4) các vị trí 234, 238, 250, 267, 307 và 330; (5) các vị trí 238, 250, 264, 307 và 330; (6) các vị trí 238, 250, 264, 267, 307 và 330; (7) các vị trí 238, 250, 267, 307 và 330; (8) các vị trí 238, 250 và 307; và (9) các vị trí 238, 250, 307 và 330, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin (ví dụ, sự thay thế) được chọn từ nhóm bao gồm: (a) Tyr tại vị trí 234; (b) Asp tại vị trí 238; (c)

Val tại vị trí 250, (d) Ile tại vị trí 264; (e) Ala tại vị trí 267; (f) Pro tại vị trí 307; và (g) Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, và Pro tại vị trí 307; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb

được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin (ví dụ, các sự thay thế) của: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến polypeptit được phân lập bao gồm các vùng Fc biến đổi tăng điểm đẳng điện (pI). Theo các phương án đã biết, vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin trong vùng Fc gốc. Theo các phương án đã biết, mỗi sự biến đổi axit amin tăng điểm đẳng điện (pI) của vùng Fc biến đổi so với chúng của vùng Fc gốc. Chúng dựa vào các phát hiện rằng sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương có thể được đẩy mạnh với một kháng thể của pI đã từng được tăng cường bởi sự biến đổi của ít nhất hai các gốc axit amin, ví dụ khi kháng thể được cung cấp *in vivo*.

Theo sáng chế, pI có thể hoặc là pI được xác định theo lý thuyết hoặc theo thử nghiệm. Giá trị của pI có thể được xác định, ví dụ, bằng tiêu điểm đẳng điện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Giá trị của pI theo lý thuyết có thể được tính toán, ví dụ, sử dụng phầm mềm phân tích gen và trình tự axit amin (Genetyx, etc.).

Theo một phương án, giá trị pI có thể được tăng cường, ví dụ, ít nhất bằng 0,01, 0,03, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, hoặc cao hơn, ít nhất bằng 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, hoặc cao hơn, ít nhất bằng 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, hoặc cao hơn, hoặc ít nhất bằng 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 3,0 hoặc cao hơn, khi so với trước khi biến đổi.

Theo các phương án đã biết, axit amin cho pI đã tăng cường có thể được lộ ra trên bề mặt của vùng Fc biến đổi. Theo sáng chế, axit amin mà có thể được lộ ra trên bề mặt nhìn chung đề cập đến gốc axit amin được tìm thấy ở trên bề mặt của polypeptit cấu thành vùng Fc biến đổi. Gốc axit amin được tìm thấy ở trên bề mặt của polypeptit đề cập đến gốc axit amin của chuỗi bên có thể tiếp xúc với các phân tử dung môi (mà nhìn chung chủ yếu là các phân tử nước). Tuy nhiên, chuỗi bên không cần phải hoàn toàn tiếp xúc với các phân tử dung môi, và ngay cả khi một phần của chuỗi bên tiếp xúc với các phân tử dung môi, axit amin được xác định như một "gốc axit amin được tìm thấy ở trên bề mặt". Các gốc axit amin được tìm thấy ở trên bề mặt của polypeptit cũng bao gồm các gốc axit amin được tìm thấy ở gần với bề mặt và nhờ đó có thể có tác dụng điện tích từ gốc axit amin khác của chuỗi bên, thậm chí từng phần, tiếp xúc với các phân tử dung môi. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể điều chế một kiểu đồng nhất của polypeptit làm ví dụ, sử dụng các phần mềm có sẵn trên thị trường. Ngoài ra, có thể sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, như tinh thể học tia X. Các gốc axit amin mà có thể được lộ ra trên bề mặt được xác định, ví dụ, sử dụng việc phối hợp từ mô hình ba chiều sử dụng chương trình máy tính như chương trình InsightII (Accelrys). Các vị trí có thể lộ ra trên bề mặt có thể được xác định sử dụng các thuật toán đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, Lee and Richards (J. Mol. Biol. 55:379-400 (1971)); Connolly (J. Appl. Cryst. 16:548-558 (1983)). Các vị trí có thể lộ ra trên bề mặt có thể được xác định sử dụng phần mềm phù hợp đối với tạo mẫu protein và thông tin cấu trúc ba chiều. Phần mềm có sẵn cho các mục đích này bao gồm, ví dụ, phần mềm SYBYL Biopolyme Module (Tripos Associates). Khi một thuật toán yêu cầu thông số kích thước đầu vào của người sử dụng, "kích thước" của một máy dò được sử dụng khi tính toán có thể được cài đặt đến khoảng 1,4 Angstrom (A) hoặc ngắn hơn theo bán kính. Hơn thế nữa, các phương pháp để xác định các vùng có thể lộ ra trên bề mặt bằng cách sử dụng phần mềm cho các máy tính cá nhân đã từng được mô tả bởi Pacios (Comput. Chem. 18(4):377-386 (1994); J.

Mol. Model. 1:46-53 (1995)). Dựa vào thông tin này như được mô tả trên đây, các gốc axit amin thích hợp được tìm thấy ở trên bề mặt của polypeptit mà cấu thành vùng Fc biến đổi có thể được chọn.

Theo các phương án đã biết, polypeptit bao gồm cả vùng Fc biến đổi và miền gắn kết kháng nguyên. Theo các phương án nữa, kháng nguyên là kháng nguyên hòa tan. Theo một phương án, kháng nguyên có mặt trong các dịch sinh học (Ví dụ, huyết tương, dịch kẽ, dịch bạch huyết, dịch người mắc chứng cổ trướng, và dịch màng phổi) của các đối tượng. Kháng nguyên cũng có thể là kháng nguyên màng.

Theo các phương án nữa, hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên thay đổi theo các trạng thái nồng độ ion. Theo một phương án, nồng độ ion là không bị giới hạn cụ thể và đề cập đến nồng độ ion hydro (pH) hoặc nồng độ ion kim loại. Ở đây, các ion kim loại đề cập đến các ion của nhóm các nguyên tố I ngoại trừ hydro, như các kim loại kiềm và các nguyên tố nhóm đồng, các nguyên tố nhóm II như các kim loại kiềm thổ và các nguyên tố nhóm kẽm, các nguyên tố nhóm III ngoại trừ bo, các nguyên tố nhóm IV ngoại trừ cacbon và silic, các nguyên tố nhóm VIII như nhóm kim loại và các nguyên tố nhóm platin, các nguyên tố thuộc nhóm phụ A của các nhóm V, VI, và VII, và các nguyên tố kim loại như antimon, bismut, và poloni. Theo sáng chế, các ion kim loại bao gồm, ví dụ, ion canxi, như được mô tả ở WO 2012/073992 và WO 2013/125667. Theo một phương án, "trạng thái nồng độ ion" có thể là trạng thái mà tập trung vào các sự khác biệt về hoạt động sinh học của miền gắn kết kháng nguyên giữa một nồng độ ion thấp và nồng độ ion cao. Hơn thế nữa, "hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên thay đổi theo các trạng thái nồng độ ion" có nghĩa là về hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên thay đổi giữa nồng độ ion thấp và nồng độ ion cao (như một miền gắn kết kháng nguyên được đề cập đến ở đây như "miền gắn kết kháng nguyên phụ thuộc nồng độ ion"). Hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên dưới trạng thái nồng độ ion cao có thể là lớn hơn (mạnh hơn) hoặc nhỏ hơn (yếu hơn) dưới trạng thái

nồng độ ion thấp. Theo một phương án, các miền gắn kết kháng nguyên phụ thuộc nồng độ ion (như các miền gắn kết kháng nguyên phụ thuộc pH hoặc miền gắn kết kháng nguyên phụ thuộc nồng độ ion canxi) có thể đã thu được bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, được mô tả ở WO 2009/125825, WO 2012/073992, và WO 2013/046722.

Theo sáng chế, hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên dưới trạng thái nồng độ ion canxi cao có thể cao hơn dưới trạng thái nồng độ ion canxi thấp. Nồng độ ion canxi cao là không bị giới hạn cụ thể nhưng có thể là nồng độ được chọn từ 100 micro M đến 10 mM, từ 200 micro M đến 5 mM, từ 400 micro M đến 3 mM, từ 200 micro M đến 2 mM, từ 400 micro M đến 1 mM, hoặc từ 500 micro M đến 2,5 mM, mà có thể thích hợp tiệm cận với nồng độ huyết tương (huyết) của ion canxi *in vivo*. Trong khi đó, nồng độ ion canxi thấp là không bị giới hạn cụ thể nhưng có thể là nồng độ được chọn từ 0,1 micro M đến 30 micro M, từ 0,2 micro M đến 20 micro M, từ 0,5 micro M đến 10 micro M, từ 1 micro M đến 5 micro M, hoặc từ 2 micro M đến 4 micro M, mà có thể thích hợp tiệm cận với nồng độ của ion canxi ở các hạt cơ quan nội bào ban đầu *in vivo*.

Theo một phương án, tỷ lệ giữa các hoạt tính gắn kết kháng nguyên dưới trạng thái nồng độ ion canxi thấp và trạng thái nồng độ ion canxi cao là không bị giới hạn nhưng tỷ lệ của hằng số phân ly (KD) dưới trạng thái nồng độ ion canxi thấp với KD dưới trạng thái nồng độ ion canxi cao, tức là, KD (trạng thái nồng độ ion canxi thấp)/KD (trạng thái nồng độ ion canxi cao), là 2 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, hoặc 40 hoặc lớn hơn. Giới hạn trên của tỷ lệ có thể là 400, 1000, hoặc 10000, như miền gắn kết kháng nguyên này có thể được sản xuất bởi các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, ví dụ, hằng số tốc độ phân ly (kd) có thể được sử dụng thay cho KD. Trong trường hợp này, tỷ lệ của kd dưới trạng thái nồng độ ion canxi thấp với kd dưới trạng thái nồng độ ion canxi cao, tức là, kd (trạng thái nồng độ ion canxi thấp)/kd (trạng thái nồng độ ion canxi cao), là 2 hoặc lớn hơn, 5 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, hoặc 30 hoặc lớn hơn. Giới hạn trên của tỷ lệ có thể là 50, 100, hoặc 200, như miền gắn

kết kháng nguyên có thể được sản xuất dựa vào kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo sáng chế, hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên dưới nồng độ ion hydro thấp (pH trung tính) có thể cao hơn dưới nồng độ ion hydro cao (pH có tính axit). pH có tính axit có thể là, ví dụ, pH được chọn từ pH 4,0 đến pH 6,5, được chọn từ pH 4,5 đến pH 6,5, được chọn từ pH 5,0 đến pH 6,5, hoặc được chọn từ pH 5,5 đến pH 6,5, được ưu tiên để gần với pH *in vivo* trong các hạt cơ quan nội bào trước đó. pH có tính axit cũng có thể là, ví dụ, pH 5,8 hoặc pH 6,0. Các phương án cụ thể là, pH có tính axit là pH 5,8. Trong khi đó, pH trung tính có thể là, ví dụ, pH được chọn từ pH 6,7 đến pH 10,0, được chọn từ pH 6,7 đến pH 9,5, được chọn từ pH 7,0 đến pH 9,0, hoặc được chọn từ pH 7,0 đến pH 8,0, được ưu tiên để gần với pH *in vivo* trong huyết tương (huyết). pH trung tính cũng có thể là, ví dụ, pH 7,4 hoặc pH 7,0. Các phương án cụ thể là, pH trung tính là pH 7,4.

Theo một phương án, tỷ lệ giữa các hoạt tính gắn kết kháng nguyên trogn điều kiện pH có tính axit và điều kiện pH trung tính là không bị giới hạn, nhưng tỷ lệ của hằng số phân ly (KD) trong điều kiện pH có tính axit với KD trong điều kiện pH trung tính, tức là, KD (điều kiện pH có tính axit)/KD (điều kiện pH trung tính), là 2 hoặc nhiều hơn, 10 hoặc nhiều hơn, hoặc 40 hoặc nhiều hơn. Giới hạn trên của tỷ lệ có thể là 400, 1000, hoặc 10000, như miền gắn kết kháng nguyên này có thể được sản xuất bởi các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, ví dụ, hằng số tốc độ phân ly (kd) có thể được sử dụng thay cho KD. Trong trường hợp này, tỷ lệ của kd trong điều kiện pH có tính axit với kd trong điều kiện pH trung tính, tức là, kd (điều kiện pH có tính axit)/kd (điều kiện pH trung tính) là 2 hoặc cao hơn, 5 hoặc cao hơn, 10 hoặc cao hơn, hoặc 30 hoặc cao hơn. Giới hạn trên của tỷ lệ có thể là 50, 100, hoặc 200, như miền gắn kết kháng nguyên có thể được sản xuất dựa vào kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một phương án, ví dụ, ít nhất một gốc axit amin được thế với gốc axit amin với chuỗi bên pKa là từ 4,0 đến 8,0, và/hoặc ít nhất một axit amin với chuỗi bên pKa là từ 4,0 đến 8,0 được chèn vào trong miền gắn kết kháng nguyên, như được mô tả ở WO 2009/125825. Axit amin có thể được thế và/hoặc được chèn vào tại vị trí bất kỳ miễn là hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên trở nên yếu hơn trong điều kiện pH có tính axit hơn là trong điều kiện pH trung tính so với hoạt tính trước khi có sự thay thế hoặc sự chèn này. Khi miền gắn kết kháng nguyên có vùng biến đổi hoặc CDR, vị trí có thể nằm trong vùng biến đổi hoặc CDR. Số lượng các axit amin được thế hoặc được chèn vào có thể được xác định thích hợp bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này; và có thể là một hoặc nhiều. Các axit amin với chuỗi bên pKa là từ 4,0 đến 8,0 có thể được sử dụng để thay đổi hoạt tính gắn kết kháng nguyên của miền gắn kết kháng nguyên theo trạng thái nồng độ ion hydro. Các axit amin này bao gồm, ví dụ, các axit amin tự nhiên như His (H) và Glu (E), và các axit amin không tự nhiên như các histidin tương đương (US2009/0035836), m-NO2-Tyr (pKa 7,45), 3,5-Br2-Tyr (pKa 7,21), và 3,5-I2-Tyr (pKa 7,38) (Heyl et al., Bioorg. Med. Chem. 11(17):3761-3768 (2003)). Các axit amin với chuỗi bên pKa là 6,0-7,0 cũng có thể được sử dụng, mà bao gồm, ví dụ, His (H).

Theo phương án khác, các miền gắn kết kháng nguyên thích hợp đối với vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường được mô tả và có thể đã thu được bằng các phương pháp được mô tả ở các đơn patent Nhật Bản số JP2015-021371 và JP2015-185254.

Theo các phương án đã biết, vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 285, 311, 312, 315, 318, 333, 335, 337, 341, 342, 343, 384, 385, 388, 390, 399, 400, 401, 402, 413, 420, 422, và 431, theo hệ đánh số EU.

Theo các phương án nữa, vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 311, 341, 343, 384, 399, 400, 401, 402, và 413, theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin bất kỳ nêu trong điểm (1)-(10) sau: (1) các vị trí 311 và 341; (2) các vị trí 311 và 343; (3) các vị trí 311, 343 và 413; (4) các vị trí 311, 384 và 413; (5) các vị trí 311 và 399; (6) các vị trí 311 và 401; (7) các vị trí 311 và 413; (8) các vị trí 400 và 413; (9) các vị trí 401 và 413; và (10) các vị trí 402 và 413; theo hệ đánh số EU.

Phương pháp tăng cường pI của protein là, ví dụ, để giảm số các axit amin với chuỗi bên mang điện âm (ví dụ, axit aspartic và axit glutamic) và/hoặc để tăng cường số các axit amin với chuỗi bên mang điện dương (ví dụ, arginin, lysin và histidin) trong điều kiện pH trung tính. Các axit amin với chuỗi bên mang điện âm có điện tích âm được thể hiện là-1 ở điều kiện pH mà cao hơn đáng kể so với chuỗi bên pKa của chúng, mà đã biết rõ về mặt lý thuyết đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, pKa lý thuyết đối với chuỗi bên của axit aspartic là 3,9, và chuỗi bên có điện tích âm được thể hiện là -1 trong điều kiện pH trung tính (ví dụ, trong dung dịch pH 7,0). Ngược lại, các axit amin với chuỗi bên mang điện dương có điện tích dương được thể hiện là +1 trong điều kiện pH thấp đáng kể so với chuỗi bên pKa của chúng. Ví dụ, pKa lý thuyết đối với chuỗi bên của arginin là 12,5, và chuỗi bên có điện tích dương được thể hiện là +1 trong điều kiện pH trung tính (ví dụ, trong dung dịch pH 7,0). Trong khi đó, các axit amin của chuỗi bên không có điện tích ở điều kiện pH trung tính (ví dụ, trong dung dịch pH 7,0) là đã biết để bao gồm 15 kiểu axit amin tự nhiên, tức là, alanin, xystein, phenylalanin, glyxin, isoleuxin, leuxin, methionin, asparagin, prolin, glutamin, serin, threonin, valin, tryptophan, và tyrosin. Như một vấn đề của tiến trình, cần hiểu rằng các axit amin để tăng cường pI có thể là các axit amin không tự nhiên.

Theo phần trên, phương pháp tăng pI của protein ở điều kiện pH trung tính (ví dụ, trong dung dịch pH 7,0) có thể dẫn đến thay đổi điện tích +1 đến protein quan tâm, ví dụ, bằng cách thay thế các axit amin với các chuỗi bên không mang điện tích đối với axit aspartic hoặc axit glutamic (của chuỗi bên có điện tích âm

là -1) trong trình tự axit amin của protein. Hơn thế nữa, điện tích có thể thay đổi thành +1 cho protein, ví dụ, bằng cách thay thế arginin hoặc lysin (của chuỗi bên có điện tích dương là +1) đối với các axit amin của chuỗi bên không có điện tích. Hơn nữa, điện tích có thể thay đổi thành +2 cho protein ở thời điểm thay thế arginin hoặc lysin (của chuỗi bên có điện tích dương là +1) đối với axit aspartic hoặc axit glutamic (của chuỗi bên có điện tích âm là -1). Ngoài ra, để tăng cường pI của protein, các axit amin với chuỗi bên không có điện tích và/hoặc tốt hơn là các axit amin có chuỗi bên mang điện dương có thể được bổ sung hoặc được chèn vào trong trình tự axit amin của protein, hoặc các axit amin với chuỗi bên không có điện tích và/hoặc tốt hơn là các axit amin với chuỗi bên mang điện âm có mặt trong trình tự axit amin của protein có thể được loại bỏ. Cần hiểu rằng, ví dụ, các gốc axit amin đầu N và đầu C của protein có điện tích có nguồn gốc từ chuỗi chính (NH_3^+ của nhóm amin ở đầu N và COO^- của nhóm cacbonyl ở đầu C) bổ sung cho các điện tích có nguồn gốc từ chuỗi bên của chúng. Do đó, pI của protein cũng có thể được tăng cường bằng cách thực hiện với các nhóm chức có nguồn gốc từ chuỗi chính bằng cách bổ sung, loại bỏ, sự thay thế, hoặc chèn thêm.

Sự thay thế của axit amin để tăng cường pI bao gồm, ví dụ, sự thay thế của axit amin của chuỗi bên không có điện tích đối với axit amin có chuỗi bên mang điện âm, sự thay thế của axit amin có chuỗi bên mang điện dương đối với axit amin của chuỗi bên không có điện tích, và sự thay thế của axit amin có chuỗi bên mang điện dương đối với axit amin có chuỗi bên mang điện âm trong trình tự axit amin của vùng Fc gốc, mà được thực hiện riêng hoặc theo các sự kết hợp thích hợp.

Sự chèn thêm hoặc bổ sung của axit amin để tăng cường pI bao gồm, ví dụ, sự chèn thêm hoặc bổ sung của axit amin của chuỗi bên không có điện tích, và/hoặc sự chèn hoặc bổ sung của axit amin có chuỗi bên mang điện dương trong trình tự axit amin của vùng Fc gốc, mà được thực hiện riêng hoặc theo các sự kết hợp thích hợp.

Sự loại bỏ của axit amin để tăng cường pI bao gồm, ví dụ, loại bỏ axit amin của chuỗi bên không có điện tích, và/hoặc loại bỏ axit amin có chuỗi bên mang điện âm trong trình tự axit amin của vùng Fc gốc, mà được thực hiện riêng hoặc theo các sự kết hợp thích hợp.

Theo một phương án, các axit amin tự nhiên được sử dụng để tăng cường pI có thể được phân loại như sau: (a) axit amin với chuỗi bên mang điện âm có thể là Glu (E) hoặc Asp (D); (b) axit amin của chuỗi bên không có điện tích có thể là Ala (A), Asn (N), Cys (C), Gln (Q), Gly (G), His (H), Ile (I), Leu (L), Met (M), Phe (F), Pro (P), Ser (S), Thr (T), Trp (W), Tyr (Y), hoặc Val (V); và (c) axit amin với chuỗi bên mang điện dương có thể là His (H), Lys (K), hoặc Arg (R). Theo một phương án, sự chèn hoặc sự thay thế axit amin sau khi biến đổi là Lys (K) hoặc Arg (R).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit được phân lập bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường. Theo các phương án đã biết, vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin trong vùng Fc gốc.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường bao gồm ít nhất ba sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU, và (b) ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 285, 311, 312, 315, 318, 333, 335, 337, 341, 342, 343, 384, 385, 388, 390, 399, 400, 401, 402, 413, 420, 422, và 431, theo hệ đánh số EU.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bo gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường, và bao gồm ít nhất ba sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) ít nhất sự biến đổi axit

amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 235, 236, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396, theo hệ đánh số EU, và (b) ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 311, 341, 343, 384, 399, 400, 401, 402, và 413, theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin bất kỳ nêu trong điểm (1)-(9) sau: (1) các vị trí 235, 236, 268, 295, 311, 326, 330 và 343; (2) các vị trí 236, 268, 295, 311, 326, 330 và 343; (3) các vị trí 236, 268, 295, 311, 330 và 413; (4) các vị trí 236, 268, 311, 330, 396 và 399; (5) các vị trí 236, 268, 311, 330 và 343; (6) các vị trí 236, 268, 311, 330, 343 và 413; (7) các vị trí 236, 268, 311, 330, 384 và 413; (8) các vị trí 236, 268, 311, 330 và 413; và (9) các vị trí 236, 268, 330, 396, 400 và 413; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường bao gồm ít nhất ba sự biến đổi axit amin bao gồm: (a) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 234, 238, 250, 264, 267, 307, và 330, và (b) ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 285, 311, 312, 315, 318, 333, 335, 337, 341, 342, 343, 384, 385, 388, 390, 399, 400, 401, 402, 413, 420, 422, và 431, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án nữa, các polypeptit bao gồm ít nhất hai sự biến đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 311, 341, 343, 384, 399, 400, 401, 402, và 413, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, SEQ ID NO:212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và pI đã tăng cường bao gồm các sự biến đổi axit amin bất kỳ nêu trong điểm (1)-(16) sau: (1) các vị trí 234, 238, 250, 264, 307, 311, 330 và 343; (2) các vị trí 234, 238, 250, 264, 307, 311, 330 và 413; (3) các vị trí 234, 238, 250, 264, 267, 307, 311, 330 và 343; (4) các vị trí 234, 238, 250, 264, 267, 307, 311, 330 và 413; (5) các vị trí 234, 238, 250, 267, 307, 311, 330 và 343; (6) các vị trí 234, 238, 250, 267, 307, 311, 330 và 413; (7) các vị trí 234, 238, 250, 307, 311, 330 và 343; (8) các vị trí 234, 238, 250, 307, 311, 330 và 413; (9) các vị trí 238, 250, 264, 267, 307, 311, 330 và 343; (10) các vị trí 238, 250, 264, 267, 307, 311, 330 và 413; (11) các vị trí 238, 250, 264, 307, 311, 330 và 343; (12) các vị trí 238, 250, 264, 307, 311, 330 và 413; (13) các vị trí 238, 250, 267, 307, 311, 330 và 343; (14) các vị trí 238, 250, 267, 307, 311, 330 và 413; (15) các vị trí 238, 250, 307, 311, 330 và 343; và (16) các vị trí 238, 250, 307, 311, 330 và 413; theo hệ đánh số EU.

Theo một phương án khác nữa, vùng Fc biến đổi bao gồm các sự biến đổi axit amin được chọn từ sự biến đổi riêng lẻ bất kỳ, sự kết hợp của các sự biến đổi riêng lẻ, hoặc sự kết hợp sự biến đổi được mô tả ở các Bảng 14-30.

Theo một số phương án, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế. Theo một phương án khác nữa, polypeptit là kháng thể vùng ổn định chuỗi nặng. Theo một phương án khác nữa, polypeptit là kháng thể chuỗi nặng. Theo một phương án khác nữa, polypeptit là kháng thể. Theo một phương án khác nữa, polypeptit là protein dung hợp Fc.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm trình tự axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 229-381.

"Vùng Fc gốc" theo sáng chế đề cập đến vùng Fc trước để đưa vào các sự biến đổi axit amin được mô tả ở đây. Các ví dụ thích hợp của vùng Fc gốc bao gồm các vùng Fc có nguồn gốc từ các kháng thể tự nhiên. Các kháng thể bao gồm, ví dụ, IgA (IgA1, IgA2), IgD, IgE, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), và IgM, hoặc

các kháng thể này có thể là có nguồn gốc từ người hoặc khỉ (ví dụ, xynomolgus, khỉ nâu Ấn Độ, khỉ đuôi sóc, tinh tinh, hoặc khỉ đầu chó). Các kháng thể tự nhiên cũng có thể bao gồm các đột biến xuất hiện tự nhiên. Nhiều trình tự kiểu quyết định kháng nguyên của các IgG do tính đa hình di truyền được mô tả trong "Sequences of proteins of immunological interest", NIH Publication No. 91-3242, và dạng bất kỳ trong số đó có thể được sử dụng theo sáng chế. Cụ thể là, đối với IgG1 người, trình tự axit amin tại các vị trí 356 đến 358 (hệ đánh số EU) có thể là DEL hoặc EEM. Các ví dụ thích hợp của vùng Fc gốc bao gồm các vùng Fc có nguồn gốc từ vùng ổn định chuỗi nặng của IgG1 người (SEQ ID NO: 195), IgG2 người (SEQ ID NO: 196), IgG3 người (SEQ ID NO: 197), và IgG4 người (SEQ ID NO: 198). Ví dụ thích hợp khác của vùng Fc gốc là vùng Fc có nguồn gốc từ vùng ổn định chuỗi nặng SG1 (SEQ ID NO: 9). Hơn thế nữa, vùng Fc gốc có thể là vùng Fc được sản xuất bởi việc bổ sung các sự biến đổi axit amin khác ngoài các sự biến đổi axit amin được mô tả ở đây cho vùng Fc có nguồn gốc từ kháng thể tự nhiên.

Ngoài ra, các sự biến đổi axit amin được thực hiện cho các mục đích khác có thể được kết hợp trong vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Ví dụ, các sự thay thế axit amin cải thiện hoạt tính gắn kết FcRn (Hinton et al., J. Immunol. 176(1):346-356 (2006); Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524 (2006); Petkova et al., Intl. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006); Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28(2):157-159 (2010); WO 2006/019447; WO 2006/053301; và WO 2009/086320), và các sự thay thế axit amin để cải thiện kháng thể không đồng nhất hoặc ổn định (WO 2009/041613) có thể được bổ sung. Ngoài ra, các polypeptit với đặc tính thúc đẩy đào thải kháng nguyên, mà được mô tả trong WO 2011/122011, WO 2012/132067, WO 2013/046704 hoặc WO 2013/180201, các polypeptit với đặc tính của gắn kết đặc hiệu với mô đích, mà được mô tả trong WO 2013/180200, các polypeptit với đặc tính đối với gắn kết lặp lại với nhiều phân tử kháng nguyên, mà được mô tả trong WO 2009/125825, WO 2012/073992 hoặc WO 2013/047752, có thể được kết hợp với vùng Fc biến đổi được mô tả ở

đây. Ngoài ra, với mục đích trao khả năng gắn kết cho các kháng nguyên khác, các sự biến đổi axit amin được bộc lộ trong EP1752471 và EP1772465 có thể được kết hợp trong CH3 của vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Ngoài ra, với mục đích tăng cường sự duy trì huyết tương, các sự biến đổi axit amin làm giảm pI của vùng ổn định (WO 2012/016227) có thể được kết hợp trong vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Ngoài ra, với mục đích thúc đẩy sự hấp thu trong các tế bào, các sự biến đổi axit amin tăng cường pI của vùng ổn định (WO 2014/145159) có thể được kết hợp trong vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Ngoài ra, với mục đích thúc đẩy đào thải phân tử đích ra khỏi huyết tương, các sự biến đổi axit amin tăng cường pI của vùng ổn định (các đơn patent Nhật Bản số JP2015-021371 và JP2015-185254) có thể được kết hợp trong vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Theo một phương án, sự biến đổi này có thể bao gồm, ví dụ, sự thay thế tại ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm 311, 343, 384, 399, 400, và 413 theo hệ đánh số EU. Theo một phương án khác nữa, sự thay thế này có thể là sự thay thế của axit amin với Lys hoặc Arg ở mỗi vị trí.

Các sự biến đổi axit amin của hoạt tính gắn kết FcRn người nâng cao dưới pH có tính axit cũng có thể được kết hợp trong vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây. Cụ thể là, các sự biến đổi này có thể bao gồm, ví dụ, sự thay thế của Leu đối với Met tại vị trí 428 và sự thay thế của Ser đối với Asn tại vị trí 434, theo hệ đánh số EU (Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28:157-159 (2010)); sự thay thế của Ala đối với Asn tại vị trí 434 (Deng et al., Metab. Dispos. 38(4):600-605 (2010)); sự thay thế của Tyr đối với Met tại vị trí 252, sự thay thế của Thr đối với Ser tại vị trí 254 và sự thay thế của Glu đối với Thr tại vị trí 256 (Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-23524 (2006)); sự thay thế của Gln đối với Thr tại vị trí 250 và sự thay thế của Leu đối với Met tại vị trí 428 (Hinton et al., J. Immunol,176(1):346-356 (2006)); sự thay thế của His đối với Asn tại vị trí 434 (Zheng et al., Clin. Pharmacol. Ther. 89(2):283-290 (2011), và sự biến đổi được mô tả ở WO 2010/106180, WO 2010/045193, WO 2009/058492, WO 2008/022152, WO 2006/050166, WO 2006/053301, WO 2006/031370, WO

2005/123780, WO 2005/047327, WO 2005/037867, WO 2004/035752, hoặc WO 2002/060919. Các sự biến đổi này có thể bao gồm, ví dụ, ít nhất một sự biến đổi được chọn từ nhóm bao gồm sự thay thế Leu cho Met tại vị trí 428, sự thay thế của Ala cho Asn tại vị trí 434 và sự thay thế Thr cho Tyr tại vị trí 436. Các sự biến đổi này còn có thể bao gồm sự thay thế Arg cho Gln tại vị trí 438 và/hoặc sự thay thế Glu cho Ser tại vị trí 440 (các đơn Patent Nhật bản số JP2015-021371 và JP2015-185254).

Hai hoặc nhiều polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây có thể được bao gồm trong một phân tử, trong đó hai polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi được kết hợp, nhiều như trong kháng thể. Kiểu của kháng thể không bị giới hạn, và IgA (IgA1, IgA2), IgD, IgE, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), và IgM, hoặc chúng có thể được sử dụng.

Hai polypeptit kết hợp bao gồm các vùng Fc biến đổi có thể là các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi trong đó các sự biến đổi axit amin giống nhau đã từng được đưa vào (sau đây, được đề cập đến như các vùng Fc biến đổi tương đồng), hoặc các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi trong đó các sự biến đổi axit amin khác đã từng được đưa vào, hoặc ngoài ra các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi trong đó các sự biến đổi axit amin đã từng được đưa vào chỉ trong một trong các vùng Fc (sau đây, được đề cập đến như các polypeptit không tương thích bao gồm các vùng Fc biến đổi). Một trong số sự biến đổi axit amin thích hợp là sự biến đổi trong cấu trúc vòng từ các vị trí 233 đến 239 (hệ đánh số EU) trong miền CH2 của vùng Fc, mà được bao gồm khi gắn kết với Fc gama RIIb và Fc gama RIIa. Tốt hơn là, sự biến đổi được đưa vào trong cấu trúc vòng của miền CH2 của một trong các vùng Fc tăng cường hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb và/hoặc độ chọn lọc, và sự biến đổi khác được đưa vào trong cấu trúc vòng của miền CH2 của vùng Fc khác mà làm mất ổn định nó. Các ví dụ về các sự biến đổi axit amin mà có thể làm mất ổn định cấu trúc vòng của miền CH2 có thể là sự thay thế của ít nhất một axit amin được chọn từ các axit amin tại các vị trí 235, 236, 237, 238, và 239 thành axit amin khác. Cụ thể là, nó có thể được làm mất ổn

định, ví dụ, bởi axit amin biến đổi tại vị trí 235 đến Asp, Gln, Glu, hoặc Thr, axit amin biến đổi tại vị trí 236 đến Asn, axit amin biến đổi tại vị trí 237 đến Phe hoặc Trp, axit amin biến đổi tại vị trí 238 đến Glu, Gly, hoặc Asn, và axit amin biến đổi tại vị trí 239 thành Asp hoặc Glu, theo hệ đánh số EU.

Đối với sự kết hợp của các polypeptit không tương thích bao gồm các vùng Fc biến đổi, kỹ thuật của việc ngăn ngừa sự kết hợp không được định hướng trước của các polypeptit tương đồng bao gồm các vùng Fc biến đổi bằng cách đưa vào lực đẩy tĩnh điện trong bề mặt chung của miền CH2 hoặc CH3 của vùng Fc có thể được áp dụng, như được mô tả ở WO 2006/106905.

Các ví dụ của các gốc axit amin khi tiếp xúc ở bề mặt chung của miền CH2 hoặc CH3 của vùng Fc bao gồm gốc tại vị trí 356 (hệ đánh số EU), gốc tại vị trí 439 (hệ đánh số EU), gốc tại vị trí 357 (hệ đánh số EU), gốc tại vị trí 370 (hệ đánh số EU), gốc tại vị trí 399 (hệ đánh số EU), và gốc tại vị trí 409 (hệ đánh số EU) trong miền CH3.

Cụ thể hơn, ví dụ, vùng Fc trong đó một hoặc ba cặp của các gốc axit amin được chọn từ mục (1) đến (3) dưới đây có cùng điện tích có thể được sản xuất: (1) các gốc axit amin tại các vị trí 356 và 439 (hệ đánh số EU) trong miền CH3; (2) các gốc axit amin tại các vị trí 357 và 370 (hệ đánh số EU) trong miền CH3; và (3) các gốc axit amin tại các vị trí 399 và 409 (hệ đánh số EU) trong miền CH3.

Hơn thế nữa, các polypeptit không tương thích bao gồm các vùng Fc biến đổi có thể được sản xuất, trong đó một hoặc ba cặp của các gốc axit amin được chọn từ mục (1) đến (3) nêu trên có cùng điện tích trong miền CH3 của vùng Fc thứ nhất, và các cặp của các gốc axit amin được chọn trong vùng Fc thứ nhất nêu trên cũng có cùng điện tích trong miền CH3 của vùng Fc thứ hai, được cung cấp rằng các điện tích trong các vùng Fc thứ nhất và thứ hai là ngược nhau.

Trong các vùng Fc nêu trên, ví dụ, các gốc axit amin mang điện âm tốt hơn là được chọn từ axit glutamic (E) và axit aspartic (D), và các gốc axit amin mang điện tích dương tốt hơn là được chọn từ lysin (K), arginin (R), và histidin (H).

Các kỹ thuật đã biết khác có thể được sử dụng thêm đối với sự kết hợp của các polypeptit không tương thích bao gồm các vùng Fc biến đổi. Cụ thể là, kỹ thuật này được thực hiện bằng cách thay thế chuỗi bên axit amin xuất hiện ở một trong số các vùng Fc thành chuỗi bên lớn hơn (chìa khóa; mà có nghĩa là "chỗ lồi ra"), và việc thay thế chuỗi bên axit amin có mặt trong vùng Fc với chuỗi bên nhỏ hơn (ổ khóa; mà có nghĩa là "khuyết"), để đặt chìa khóa trong ổ khóa. Điều này có thể đẩy mạnh sự kết hợp hiệu quả giữa các polypeptit chứa vùng Fc có các trình tự axit amin khác nhau từ mỗi loại khác (WO 1996/027011; Ridgway et al., Prot. Eng. 9:617-621 (1996); Merchant et al., Nat.Biotech. 16, 677-681 (1998)).

Ngoài ra, các kỹ thuật đã biết khác cũng có thể được sử dụng đối với sự kết hợp không tương thích của các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi. Sự kết hợp của các polypeptit bao gồm vùng Fc có thể được gây ra một cách hiệu quả sử dụng các heterodime miền CH3 được thao tác trao đổi chuỗi (Davis et al., Prot. Eng. Des. & Sel., 23:195-202 (2010)). Kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng để gây ra một cách hiệu quả sự kết hợp giữa các polypeptit chứa vùng Fc có các trình tự axit amin khác nhau.

Ngoài ra, các kỹ thuật sản xuất kháng thể được heterodime hóa mà sử dụng sự kết hợp của kháng thể CH1 và CL, và sự kết hợp của VH và VL, mà được mô tả ở WO 2011/028952, cũng có thể được sử dụng.

Như với phương pháp được mô tả ở WO 2008/119353 và WO 2011/131746, cũng có thể sử dụng kỹ thuật sản xuất các kháng thể được heterodime hóa bằng cách sản xuất hai kiểu kháng thể được homodime hóa cải tiến, ủ các kháng thể trong điều kiện khử để phân tách chúng, và cho chúng kết hợp lại.

Như với phương pháp được mô tả bởi Strop (J. Mol. Biol. 420:204-219 (2012)), nó cũng có thể sử dụng kỹ thuật sản xuất các kháng thể được heterodime hóa bằng cách đưa vào các gốc mang điện tích như Lys, Arg, Glu, và Asp đối với lực đẩy tĩnh điện được đưa vào trong các miền CH3.

Hơn thế nữa, như với phương pháp được mô tả ở WO 2012/058768, nó cũng có thể sử dụng kỹ thuật sản xuất các kháng thể được heterodime hóa bằng cách bổ sung các thay đổi cho các miền CH2 và CH3.

Khi đồng thời biểu hiện hai polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi mà có các trình tự axit amin khác nhau, để tạo ra các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi không tương thích, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi tương đồng cũng thường được tạo ra dưới dạng tạp chất. Trong các trường hợp này, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi không tương thích có thể thu được hiệu quả bằng cách tách và tinh chế chúng ra khỏi các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi tương đồng bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết. Phương pháp đã từng được báo cáo để tách hiệu quả và tinh chế các kháng thể heterodime từ các kháng thể homodime bằng cách sử dụng sắc ký trao đổi ion, bằng cách đưa vào các sự biến đổi axit amin trong các vùng biến đổi của hai kiểu chuỗi nặng kháng thể để tạo ra sự khác biệt trong các điểm đẳng điện giữa các kháng thể được homodime và các kháng thể được heterodime hóa (WO 2007/114325). Phương pháp khác đã từng được báo cáo để tinh chế các kháng thể được heterodime hóa sử dụng sắc ký protein A, bằng cách tạo cấu trúc kháng thể được heterodime hóa bao gồm hai kiểu chuỗi nặng có nguồn gốc từ chuột IgG2a gắn kết với protein A và IgG2b họ chuột mà không gắn kết với protein A (WO 1998/050431 và WO 1995/033844).

Hơn thế nữa, kháng thể được heterodime hóa có thể được tinh chế hiệu quả sử dụng sắc ký protein A, bằng cách thay thế các gốc axit amin tại các vị trí 435 và 436 (hệ đánh số EU), mà được tìm thấy tại vị trí gắn kết protein A của một chuỗi nặng kháng thể, với các axit amin như Tyr hoặc His, để thu được các ái lực gắn kết protein A khác nhau.

Theo sáng chế, sự biến đổi axit amin có nghĩa là bất kỳ trong số sự thay thế, loại bỏ, bổ sung, sự chèn, và sự biến đổi, hoặc sự kết hợp của chúng. Theo sáng chế, sự biến đổi axit amin có thể được lặp lại như sự đột biến axit amin.

Khi việc thay thế các gốc axit amin, sự thay thế đến gốc axit amin khác có thể được thực hiện với mục đích làm biến đổi các khía cạnh như (a)-(c) được mô tả dưới đây: (a) cấu trúc xương sống polypeptit trong cấu trúc tấm hoặc vùng cấu trúc xoắn ốc; (b) mang điện tích hoặc kỵ nước tại vị trí đích; hoặc (c) kích cỡ của chuỗi bên.

Các gốc axit amin được phân loại trong các nhóm sau dựa vào các đặc tính chuỗi bên chung của chúng: (a) kỵ nước: Norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, và Ile; (b) trung tính ưa nước: Cys, Ser, Thr, Asn, and Gln; (c) tính axit: Asp và Glu; (d) tính bazơ: His, Lys, và Arg; (e) các gốc mà tác động đến chuỗi sự định hướng: Gly và Pro; và (f) thơm: Trp, Tyr, và Phe.

Các sự biến đổi axit amin được sản xuất bởi các phương pháp khác nhau đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các phương pháp này bao gồm phương pháp đột biến điểm trực tiếp (Hashimoto-Gotoh et al., Gene 152:271-275 (1995); Zoller, Meth. Enzymol. 100:468-500 (1983); Kramer et al., Nucleic Acids Res. 12: 9441-9456 (1984)); Kramer và Fritz, Methods Enzymol. 154: 350-367 (1987); và Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492 (1985), phương pháp đột biến PCR, và phương pháp đột biến cát xét, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương pháp này.

Số lượng các sự biến đổi axit amin được đưa vào trong vùng Fc không bị giới hạn. Theo các phương án đã biết, số lượng đột biến này có thể là 1, 2 hoặc ít hơn, 3 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, 5 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 10 hoặc ít hơn, 12 hoặc ít hơn, 14 hoặc ít hơn, 16 hoặc ít hơn, 18 hoặc ít hơn, hoặc 20 hoặc ít hơn.

Sự biến đổi axit amin bao gồm sự biến đổi sau dịch mã. Cụ thể sự biến đổi sau dịch mã có thể là bổ sung hoặc loại bỏ chuỗi đường. Ví dụ, gốc axit amin tại vị trí 297 (hệ đánh số EU) trong vùng ổn định IgG1 có thể là chuỗi đường-được biến đổi. Cấu trúc chuỗi đường đối với sự biến đổi không bị giới hạn. Ví dụ, axit sialic có thể được bổ sung cho chuỗi đường của vùng Fc (MAbs 2010 Sep-Oct,

2(5): 519-527). Nhìn chung, các kháng thể được biểu hiện trong các tế bào có nhân điển hình bao gồm sự glycosyl hóa trong vùng ổn định. Ví dụ, đã biết rằng một vài kiểu của chuỗi đường thường được bổ sung cho các kháng thể được biểu hiện trong các tế bào như các tế bào sản xuất kháng thể xuất hiện tự nhiên của động vật có vú hoặc các tế bào có nhân điển hình được biến đổi với vectơ biểu hiện bao gồm ADN mã hóa kháng thể.

Các tế bào có nhân điển hình được thể hiện ở đây bao gồm các tế bào nấm men và động vật. Ví dụ, các tế bào CHO và các tế bào HEK293 là các tế bào động vật điển hình được sử dụng khi biến nạp vectơ biểu hiện bao gồm kháng thể-mã hóa ADN. Mặt khác, các vùng ổn định không có sự glycosyl hóa cũng được bao gồm theo sáng chế. Các kháng thể của vùng ổn định là không được glycosyl hóa có thể đã thu được bằng cách biểu hiện kháng thể-mã hóa gen trong các tế bào chưa có nhân điển hình như *Escherichia coli*.

Hơn thế nữa, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể được biến đổi hóa học với các phân tử khác nhau như polyetylen glycol (PEG) và các chất gây độc tế bào. Các phương pháp đối với sự biến đổi hóa học này của một polypeptit là đã thiết lập trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến polypeptit được phân lập bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là kháng thể. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo các phương án đã biết, kháng thể là kháng thể khảm, hoặc kháng thể được làm tương thích với người. Gốc của một kháng thể không bị giới hạn cụ thể, nhưng các ví dụ bao gồm kháng thể người, kháng thể chuột nhắt, kháng thể chuột cống, và kháng thể thỏ. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc.

Các vùng biến đổi của các kháng thể bao gồm vùng Fc biến đổi được đề cập theo sáng chế và các motif gắn kết protein của các protein dung hợp Fc bao gồm vùng Fc biến đổi có thể nhận dạng kháng nguyên bất kỳ. Các ví dụ về các kháng

nguyên mà có thể được gắn kết bằng các kháng thể này và các protein dung hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các phối tử (các xytokin, các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu, và tương tự), các thụ thể, các kháng nguyên bệnh ung thư, các kháng nguyên MHC, các kháng nguyên biệt hóa, các globulin miễn dịch, và các phức hợp thể miễn dịch chứa một phần các globulin miễn dịch.

Các ví dụ về các xytokin có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế, và/hoặc được nối tái tổ hợp với polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được bộc lộ bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các interleukin 1 đến 18, yếu tố kích thích phân cụm (G-CSF, M-CSF, GM-CSF, v.v..), các interferon (IFN-alpha, IFN-beta, IFN-gama, v.v..), các nhân tố sinh trưởng (EGF, FGF, IGF, NGF, PDGF, TGF, HGF, v.v..), các nhân tố hoại tử khối u (TNF-alpha và TNF-beta), độc tố lympho bào, erythropoietin, leptin, SCF, TPO, MCAF, và BMP.

Các ví dụ về các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế, và/hoặc được nối tái tổ hợp với polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được bộc lộ bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu CC như CCL1 đến CCL28, các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu CXC như CXCL1 đến CXCL17, các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu C như XCL1 đến XCL2, và các protein hoạt hóa tế bào bạch cầu CX3C như CX3CL1.

Các ví dụ về các thụ thể có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế, và/hoặc được nối tái tổ hợp với polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được bộc lộ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các thụ thể thuộc các họ thụ thể như họ thụ thể nhân tố sinh trưởng hematopoietic, họ thụ thể xytokin, họ thụ thể kiểu kinaza Tyrosin, họ thụ thể kiểu kinaza serin/threonin, họ thụ thể TNF, họ thụ thể được ghép cặp protein G, họ thụ thể kiểu neo GPI, họ thụ thể kiểu phosphataza Tyrosin, họ nhân tố bám dính, và họ thụ thể hormon. Các thụ thể thuộc các họ thụ thể này và các đặc tính của nó đã từng được mô tả ở nhiều tài liệu như Cooke, ed. New Comprehesive Biochemistry

Vol.18B "Hormones and their Actions Part II" pp.1-46 (1988) Elsevier Science Publishers BV; Patthy (Cell 61(1):13-14 (1990)); Ullrich (Cell 61(2):203-212 (1990)); Massague (Cell 69(6):1067-1070 (1992)); Miyajima et al. (Annu. Rev. Immunol. 10:295-331 (1992)); Taga et al. (FASEB J. 6:3387-3396 (1992)); Fantl et al. (Annu. Rev. Biochem. 62:453-481 (1993)); Smith et al. (Cell 76(6):959-962 (1994)); và Flower (Biochim. Biophys. Acta 1422(3): 207-234 (1999)).

Các ví dụ về các thụ thể đặc trưng thuộc các họ thụ thể nêu trên bao gồm các thụ thể erythropoietin người hoặc chuột (EPO) (Jones et al., Blood 76(1):31-35 (1990); D'Andrea et al., Cell 57(2):277-285 (1989)), các thụ thể nhân tố kích thích phân cụm bạch cầu hạt người hoặc chuột (G-CSF) (Fukunaga et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87(22):8702-8706 (1990), mG-CSFR; Fukunaga et al., Cell 61(2): 341-350 (1990)), các thụ thể thrombopoietin người hoặc chuột (TPO) (Vigon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89(12):5640-5644 (1992); Skoda et al., EMBO J. 12(7):2645-2653 (1993)), các thụ thể insulin người hoặc chuột (Ullrich et al., Nature 313(6005):756-761 (1985)), các thụ thể phối tử Flt-3 người hoặc chuột (Small et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91(2):459-463 (1994)), các thụ thể nhân tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu người hoặc chuột (PDGF) (Gronwald et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85(10):3435-3439 (1988)), các thụ thể interferon (IFN)-alpha và beta người hoặc chuột (Uze et al., Cell 60(2): 225-234 (1990); Novick et al., Cell 77(3):391-400 (1994)), các thụ thể leptin người hoặc chuột, các thụ thể hormon sinh trưởng người hoặc chuột (GH), các thụ thể interleukin (IL)-10 người hoặc chuột, các thụ thể nhân tố sinh trưởng như insulin người hoặc chuột (IGF)-I, các thụ thể nhân tố ức chế bệnh bạch cầu người hoặc chuột (LIF), và các thụ thể nhân tố tác động đến mô thần kinh lông mao người hoặc chuột (CNTF).

Các kháng nguyên bệnh ung thư là các kháng nguyên được biểu hiện như các tế bào ác tính, và chúng cũng được gọi là các kháng nguyên đặc hiệu khối u. Các chuỗi đường bất thường xuất hiện trên các tế bào bề mặt hoặc các phân tử protein khi các tế bào trở thành bệnh ung thư cũng là các kháng nguyên bệnh ung

thư, và chúng cũng được gọi là các kháng nguyên bệnh ung thư chuỗi đường. Các ví dụ về các kháng nguyên bệnh ung thư có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, GPC3 mà là thụ thể gắn với họ thụ thể kiểu neo GPI nêu trên, và cũng được biểu hiện ở một vài bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư gan (Midorikawa et al., Int. J. Cancer 103(4):455-465 (2003)), cũng như EpCAM mà được biểu hiện ở một vài bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư phổi (Linnenbach et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86(1):27-31 (1989)), CA19-9, CA15-3, và Sialyl SSEA-1 (SLX).

Các kháng nguyên MHC được phân loại thô trong các kháng nguyên lớp I MHC và các kháng nguyên lớp II MHC. Các kháng nguyên lớp I MHC bao gồm HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G, và -H, và các kháng nguyên lớp II MHC bao gồm HLA-DR, -DQ, và -DP.

Các ví dụ về sự biệt hóa các kháng nguyên mà có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế, và/hoặc được nối tái tổ hợp với polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được bộc lộ bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, các CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD23, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD33, CD34, CD35, CD38, CD40, CD41a, CD41b, CD42a, CD42b, CD43, CD44, CD45, CD45RO, CD48, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD51, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD64, CD69, CD71, CD73, CD95, CD102, CD106, CD122, CD126, và CDw130.

Các globulin miễn dịch bao gồm IgA, IgM, IgD, IgG, và IgE. Các phức hợp thể miễn dịch bao gồm thành phần của ít nhất các globulin miễn dịch bất kỳ.

Các ví dụ về các kháng nguyên có thể được gắn kết bằng kháng thể hoặc protein dung hợp chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế, và/hoặc được nối tái tổ hợp với polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được bộc lộ bao gồm, nhưng không

chỉ giới hạn ở, 17-IA, 4-1BB, 4Dc, 6-keto-PGF1a, 8-iso-PGF2a, 8-oxo-dG, A1 thụ thể adenosin, A33, ACE, ACE-2, activin, activin A, activin AB, activin B, activin C, activin RIA, activin RIA ALK-2, activin RIB ALK-4, activin RIIA, activin RIIB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17/TACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, addressin, aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, alpha-1-antitrypsin, chất đối kháng alpha-V/beta-1, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, artemin, kháng Id, ASPARTIC, peptit thừa natri tâm nhĩ, av/b3 integrin, Axl, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, nhân tố kích thích lymphô bào B (BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCAM, Bcl, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BIM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2 BMP-2a, BMP-3 Osteogenin, BMP-4, BMP-2b, BMP-5, BMP-6 Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8 (BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-IA (ALK-3), BMPR-IB (ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II (BRK-3), BMP, b-NGF, BOK, bombesin, nhân tố tác động đến mô thần kinh có nguồn gốc từ xương, BPDE, BPDE-DNA, BTC, nhân tố bổ thể 3 (C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, calcitonin, cAMP, kháng nguyên ung thư phôi (CEA), kháng nguyên liên quan đến ung thư, cathepsin A, cathepsin B, cathepsin C/DPPI, cathepsin D, cathepsin E, cathepsin H, cathepsin L, cathepsin O, cathepsin S, cathepsin V, cathepsin X/Z/P, CBL, CCI, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR11, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD3, CD3E, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (p67 protein), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR,

cGMP, CINC, độc tố Botulinum, độc tố Perfringens Clostridium, CKb8-1, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, kháng nguyên liên quan đến khối u xytokeratin, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, nhân tố điều chỉnh bổ thể (nhân tố đẩy nhanh sự phân rã), des(1-3)-IGF-I (IGF-1 não), Dhh, digoxin, DNAM-1, Dnaza, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, ENA, thụ thể endothelin, enkephalinaza, eNOS, Eot, eotaxin 1, EpCAM, ephrin B2/EphB4, EPO, ERCC, E-selectin, ET-1, nhân tố IIa, nhân tố VII, nhân tố VIIIc, nhân tố IX, protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), Fas, FcR1, FEN-1, ferritin, FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, fibrin, FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, hormon kích thích nang, fractalkin, FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3 (Vgr-2), GDF-5 (BMP-14, CDMP-1), GDF-6 (BMP-13, CDMP-2), GDF-7 (BMP-12, CDMP-3), GDF8 (myostatin), GDF-9, GDF-15 (MIC-1), GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-alpha1, GFR-alpha2, GFR-alpha3, GITR, glucagon, Glut4, glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, hormon giải phóng hormon sinh trưởng, hapten (NP-cap hoặc NIP-cap), HB-EGF, HCC, glycoprotein vỏ HCMV gB, glycoprotein vỏ HCMV gH, HCMV UL, nhân tố sinh trưởng tạo huyết (HGF), Hep B gp120, heparanaza, Her2, Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB-4), gB glycoprotein virut bệnh rộp da không đau (HSV), HSV gD glycoprotein, HGFA, kháng nguyên liên quan đến u ác tính trọng lượng phân tử cao (HMW-MAA), HIV gp120, vòng HIV IIIB gp 120 V3, HLA, HLA-DR, HM1,24, HMFG PEM, HRG, Hrk, protein dạng sợi tim người, virut làm to tế bào biểu mô người (HCMV), hormon sinh trưởng người (HGH), HVEM, I-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, thụ thể IgA, IgE, IGF, protein gắn kết IGF, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2,

IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, interferon (IFN)-alpha, IFN-beta, IFN-gama, inhibin, iNOS, insulin chuỗi A, insulin chuỗi B, nhân tố sinh trưởng như insulin 1, integrin alpha 2, integrin alpha3, integrin alpha4, integrin alpha4/beta1, integrin alpha4/beta7, integrin alpha5 (alpha V), integrin alpha5/beta1, integrin alpha5/beta3, integrin alpha6, integrin beta1, integrin beta2, interferon gama, IP-10, I-TAC, JE, kallikrein 2, kallikrein 5, kallikrein 6, kallikrein 11, kallikrein 12, kallikrein 14, kallikrein 15, kallikrein L1, kallikrein L2, kallikrein L3, kallikrein L4, KC, KDR, nhân tố sinh trưởng tế bào sừng (KGF), laminin 5, LAMP, LAP, LAP (TGF-1), TGF-1 tiềm ẩn, TGF-1 bp1 tiềm ẩn, LBP, LDGF, LECT2, lefty, kháng nguyên Lewis-Y, kháng nguyên liên quan đến Lewis-Y, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, lipoprotein, LIX, LKN, Lptn, L-selectin, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, bề mặt phổi, hormon lutein hóa, thụ thể độc tố lymphô bào beta, Mac-1, MAdCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, METALLOPROTEAZAS, thụ thể MGDF, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-alpha, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, mucin (Muc1), MUC18, chất ức chế Mullerian, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-Cadherin, NCA 90, NCAM, neprilysin, neurotrophin-3, -4, hoặc -6, neurturin, nhân tố sinh trưởng dây thần kinh (NGF), NGFR, NGF-beta, nNOS, NO, NOS, Npn, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, hormon tuyến cận giáp, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-cadherin, PCNA, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PGI2, PGJ2, PIN, PLA2, phosphataza kiềm nhau thai (PLAP), PIGF, PLP, PP14, proinsulin, prorelaxin, protein C, PS, PSA, PSCA, kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA), PTEN, PTHrp, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, relaxin chuỗi A, relaxin chuỗi B, thận tố, virut hỗn bào đường hô hấp (RSV) F, RSV Fgp, Ret, nhân tố gây bệnh phong thấp, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERIN, albumin huyết thanh, sFRP-3, Shh,

SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDF, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72 (glycoprotein-72 liên quan đến khối u), TARC, TCA-3, thụ thể tế bào T (Ví dụ, thụ thể alpha/beta tế bào T), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, phosphataza kiềm như PLAP tinh hoàn, TfR, TGF, TGF-alpha, TGF-beta, TGF-beta Pan Specific, TGF-betaRI (ALK-5), TGF-betaRII, TGF-betaRIIb, TGF-betaRIII, TGF-beta1, TGF-beta2, TGF-beta3, TGF-beta4, TGF-beta5, trombin, Ck-1 tuyến ức, hormon kích thích tuyến giáp, bím tóc, TIMP, TIQ, nhân tố mô, TMEFF2, Tmpo, TMPRSS2, TNF, TNF-alpha, TNF-alpha beta, TNF-beta2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C (TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D (TRAIL R4 DcR2, TRUNDD), TNFRSF11A (RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B (OPG OCIF, TR1), TNFRSF12 (TWEAK R FN14), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF R), TNFRSF14 (HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16 (NGFR p75NTR), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF18 (GITR AITR), TNFRSF19 (TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF1A (TNF RI CD120a, p55-60), TNFRSF1B (TNF RII CD120b, p75-80), TNFRSF26 (TNFRH3), TNFRSF3 (LTbR TNF RIII, TNFC R), TNFRSF4 (OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF5 (CD40 p50), TNFRSF6 (Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B (DcR3 M68, TR6), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF9 (4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF22 (DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRST23 (DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25 (DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10 (phối tử TRAIL Apo-2, TL2), TNFSF11 (phối tử ODF TRANCE/RANK, phối tử OPG), TNFSF12 (phối tử TWEAK Apo-3, phối tử DR3), TNFSF13 (APRIL TALL2), TNFSF13B (BAFF BLYS, TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14 (phối tử LIGHT HVEM, LTg), TNFSF15 (TL1A/VEGI), TNFSF18 (phối tử GITR phối tử AITR, TL6), TNFSF1A (TNF-a Conectin, DIF, TNFSF2), TNFSF1B (TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3 (LTb TNFC, p33), TNFSF4 (phối tử OX40 gp34, TXGP1), TNFSF5

(phối tử CD40 CD154, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6 (phối tử Fas phối tử Apo-1, phối tử APT1), TNFSF7 (phối tử CD27 CD70), TNFSF8 (phối tử CD30 CD153), TNFSF9 (phối tử 4-1BB phối tử CD137), TP-1, t-PA, Tpo, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, thụ thể transferrin, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, kháng nguyên CA125 liên quan đến khối u, kháng nguyên liên quan đến khối u biểu hiện các cacbohydrat liên quan đến Lewis-Y, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, urokinaza, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-Cadherin, VE-cadherin-2, VEFGR-1 (flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3 (flt-4), VEGI, VIM, kháng nguyên virut, VLA, VLA-1, VLA-4, VNR integrin, nhân tố von Willebrand, WIF-1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD, HMGB1, IgA, A-beta, CD81, CD97, CD98, DDR1, DKK1, EREG, Hsp90, IL-17/IL-17R, IL-20/IL-20R, LDL oxy hóa, PCSK9, prekallikrein, RON, TMEM16F, SOD1, Chromogranin A, Chromogranin B, tau, VAP1, kininogen trọng lượng phân tử cao, IL-31, IL-31R, Nav1,1, Nav1,2, Nav1,3, Nav1,4, Nav1,5, Nav1,6, Nav1,7, Nav1,8, Nav1,9, EPCR, C1, C1q, C1r, C1s, C2, C2a, C2b, C3, C3a, C3b, C4, C4a, C4b, C5, C5a, C5b, C6, C7, C8, C9, nhân tố B, nhân tố D, nhân tố H, properdin, sclerostin, fibrinogen, fibrin, prothrombin, thrombin, nhân tố mô, nhân tố V, nhân tố Va, nhân tố VII, nhân tố VIIa, nhân tố VIII, nhân tố VIIIa, nhân tố IX, nhân tố IXa, nhân tố X, nhân tố Xa, nhân tố XI, nhân tố XIa, nhân tố XII, nhân tố XIIa, nhân tố XIII, nhân tố XIIIa, TFPI, antithrombin III, EPCR, thrombomodulin, TAPI, tPA, plasminogen, plasmin, PAI-1, PAI-2, GPC3, Syndecan-1, Syndecan-2, Syndecan-3, Syndecan-4, LPA, và S1P; và các thụ thể đối với hormon và các yếu tố sinh trưởng.

Như được đề cập ở đây, một hoặc nhiều sự biến đổi gốc axit amin được cho phép trong các trình tự axit amin cấu thành các vùng biến đổi như các hoạt tính gắn kết kháng nguyên của nó được duy trì. Khi biến đổi trình tự axit amin vùng biến đổi, không có giới hạn cụ thể trên vị trí của sự biến đổi và số của các axit

amin được biến đổi. Ví dụ, các axit amin có trong CDR và/hoặc FR có thể được biến đổi thích hợp. Khi làm biến đổi các axit amin trong vùng biến đổi, hoạt tính gắn kết tốt hơn được duy trì không có sự giới hạn cụ thể; và ví dụ, khi so với trước khi biến đổi, hoạt tính gắn kết có thể là 50% hoặc nhiều hơn, 80% hoặc nhiều hơn, và 100% hoặc nhiều hơn. Hơn thế nữa, hoạt tính gắn kết có thể được tăng cường bằng các sự biến đổi axit amin. Ví dụ, hoạt tính gắn kết có thể là 2-, 5-, 10-lần cao hơn hoặc thí dụ cao hơn trước khi biến đổi. Sự biến đổi trình tự axit amin có thể là ít nhất một trong số các sự thay thế gốc axit amin, bổ sung, loại bỏ, và sự biến đổi.

Ví dụ, sự biến đổi của glutamin đầu N của vùng biến đổi trong pyroaxit glutamic bởi sự làm tăng thụ thể là sự biến đổi lỗ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, khi chuỗi nặng đầu N là glutamin, các kháng thể được mô tả ở đây có thể bao gồm các vùng biến đổi trong đó glutamin được biến đổi thành pyroaxit glutamic.

Các vùng biến đổi kháng thể được mô tả ở đây có thể có các trình tự bất kỳ, và chúng có thể là các vùng biến đổi kháng thể của gốc bất kỳ, như các kháng thể chuột, các kháng thể họ chuột, các kháng thể thỏ, các kháng thể dê, các kháng thể lạc đà, các kháng thể được làm tương thích với người được sản xuất bằng cách làm giống như của người các kháng thể không phải người này, và các kháng thể người. Hơn thế nữa, các kháng thể này có thể có các sự thay thế axit amin khác nhau được đưa vào trong các vùng biến đổi của chúng để cải thiện sự gắn kết kháng nguyên của chúng, dược động học, sự ổn định, và chất kháng nguyên. Các vùng biến đổi có thể có khả năng gắn kết các kháng nguyên lặp đi lặp lại do sự phụ thuộc pH của chúng vào kháng nguyên gắn kết (WO 2009/125825).

Chuỗi kapa và chuỗi lambda có mặt trong các vùng ổn định chuỗi nhẹ kháng thể, và hoặc chúng là chất nhận. Hơn thế nữa, các chuỗi có một vài sự biến đổi axit amin như các sự thay thế, loại bỏ, bổ sung, và/hoặc chèn vào.

Hơn thế nữa, các polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây có thể được thực hiện trong các protein dung hợp Fc bằng cách liên kết với các protein khác như các peptit hoạt hóa sinh lý học. Các protein dung hợp này có thể là multimer của ít nhất hai polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi. Các ví dụ của các protein khác bao gồm các thụ thể, các phân tử bám dính, các phối tử, và các enzym, nhưng không chỉ giới hạn ở đó.

Các ví dụ về các protein dung hợp Fc bao gồm các protein được nối với vùng Fc đến thụ thể gắn kết với phân tử đích, bao gồm protein dung hợp TNFR-Fc, protein dung hợp IL1R-Fc, protein dung hợp VEGFR-Fc, và protein dung hợp CTLA4-Fc (Economides et al,. Nat. Med. 9(1):47-52 (2003); Dumont et al., BioDrugs. 20(3):151-60 (2006)). Hơn thế nữa, các protein cần được nối có thể là các phân tử khác có hoạt tính gắn kết đích, ví dụ, scFvs (WO 2005/037989), các kháng thể miền đơn (WO 2004/058821; WO 2003/002609), các phân tử như kháng thể (Davinder, Curr. Op. Biotech. 17:653-658 (2006); Current Opinion in Biotechnology 18:1-10 (2007); Nygren et al., Curr. Op. Struct. Biol. 7:463-469 (1997); và Hoss. Protein Science 15:14-27 (2006)) như DARPins (WO 2002/020565), Affibody (WO 1995/001937), Avimer (WO 2004/044011; WO 2005/040229), và Adnectin (WO 2002/032925). Hơn thế nữa, các kháng thể và các protein dung hợp Fc có thể là đa đặc hiệu và có thể gắn kết với nhiều kiểu của các phân tử đích hoặc các epitop.

B. Các phương pháp tái tổ hợp và các chế phẩm

Các kháng thể có thể được sản xuất sử dụng các phương pháp tái tổ hợp và các chế phẩm, ví dụ, như được mô tả ở patent Hoa Kỳ số 4,816,567. Theo một phương án, axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể kháng myostatin được mô tả ở đây được cung cấp. Theo phương án khác, axit nucleic được phân lập mã hóa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi hoặc vùng Fc gốc được mô tả ở đây được cung cấp. Axit nucleic này có thể mã hóa trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin bao gồm VL và/hoặc VH của kháng thể (ví dụ, các chuỗi nặng

và/hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể). Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều vectơ (ví dụ, các vectơ biểu hiện) bao gồm axit nucleic này được cung cấp. Theo một phương án khác nữa, tế bào chủ bao gồm axit nucleic này được cung cấp. Theo một phương án, tế bào chủ bao gồm (ví dụ, đã từng được biến đổi với): (1) vectơ bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bao gồm VL của kháng thể và trình tự axit amin bao gồm VH của kháng thể, hoặc (2) vectơ thứ nhất bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bao gồm VL của kháng thể và vectơ thứ hai bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bao gồm VH của kháng thể. Theo một phương án, tế bào chủ có nhân điển hình, ví dụ, tế bào hoặc tế bào bạch huyết trứng chuột hamster Trung Quốc (CHO) (ví dụ, tế bào Y0, NS0, và Sp20). Theo một phương án, phương pháp tạo ra kháng thể kháng myostatin được cung cấp, trong đó phương pháp bao gồm việc cấy tế bào chủ bao gồm axit nucleic mã hóa kháng thể, như được đề cập ở trên, dưới các điều kiện phù hợp đối với sự biểu hiện của kháng thể, và tùy ý hồi phục kháng thể từ tế bào chủ (hoặc môi trường cấy tế bào chủ). Theo phương án khác, phương pháp tạo ra polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi hoặc vùng Fc gốc được cung cấp, trong đó phương pháp bao gồm việc cấy tế bào chủ bao gồm các axit nucleic mã hóa polypeptit như, kháng thể, vùng Fc, hoặc vùng Fc biến đổi, như được đề cập ở trên, trong các điều kiện phù hợp đối với sự biểu hiện của polypeptit, và tùy ý hồi phục polypeptit từ tế bào chủ (hoặc môi trường cấy tế bào chủ).

Đối với việc sản xuất tái tổ hợp của một kháng thể kháng myostatin, các axit nucleic mã hóa kháng thể, ví dụ, như được mô tả trên đây, là được phân lập và được chèn vào trong một hoặc nhiều vectơ để nhân dòng và/hoặc biểu hiện tiếp trong tế bào chủ. Đối với việc sản xuất tái tổ hợp của vùng Fc, axit nucleic mã hóa vùng Fc được phân lập và được chèn vào trong một hoặc nhiều vectơ để nhân dòng và/hoặc biểu hiện tiếp trong tế bào chủ. Axit nucleic này có thể dễ dàng được phân lập và được giải trình tự sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, sử dụng các đầu dò oligonucleotit mà có khả năng gắn kết đặc hiệu với các gen mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể).

Các tế bào chủ phù hợp cho việc nhân bản hoặc sự biểu hiện của các vectơ mã hóa kháng thể bao gồm các tế bào chưa có nhân điển hình hoặc có nhân điển hình được mô tả ở đây. Ví dụ, các kháng thể có thể được sản xuất trong vi khuẩn, cụ thể là khi sự glycosyl hóa và chức năng phản ứng Fc là không cần thiết. Đối với sự biểu hiện của các mảnh kháng thể và các polypeptit trong vi khuẩn, xem, ví dụ, các patent Hoa Kỳ số 5,648,237, 5,789,199, và 5,840,523. (cũng xem, Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), các trang 245-254, mô tả sự biểu hiện của các mảnh kháng thể trong E. coli.) Sau khi biểu hiện, kháng thể có thể được phân lập từ khối tế bào vi khuẩn trong phân đoạn hòa tan và có thể được tinh chế thêm.

Bổ sung cho các sinh vật chưa có nhân điển hình, có nhân điển hình các vi khuẩn như nấm hoặc nấm men dạng sợi là phù hợp để nhân dòng hoặc các vật chủ biểu hiện đối với các vectơ mã hóa kháng thể, bao gồm các giống nấm và nấm men của các chuỗi các phản ứng hóa sinh glycosyl hóa đã từng "được làm tương thích với người" do việc sản xuất của một kháng thể với một phần hoặc toàn bộ mẫu glycosyl hóa người. Xem Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), và Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

Các tế bào chủ phù hợp đối với sự biểu hiện của kháng thể được glycosyl hóa cũng có nguồn gốc từ các sinh vật đa bào (các động vật không có xương sống và các động vật có xương sống). Các ví dụ về các tế bào động vật không có xương sống bao gồm thực vật và các tế bào côn trùng. Nhiều giống virut động vật xương nhỏ đã từng được đồng nhất trong đó có thể được sử dụng liên kết với các tế bào côn trùng, cụ thể là đối với các tế bào bướm đêm frugiperda truyền nhiễm của bướm đêm chủng Spodoptera.

Dòng tế bào thực vật cũng có thể được sử dụng như các vật chủ. Xem, ví dụ, các patent Hoa Kỳ số 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, và 6,417,429 (mô tả kỹ thuật PLANTIBODIES™ để sản xuất các kháng thể trong các thực vật chuyển gen).

Các tế bào động vật có xương sống cũng có thể được sử dụng như các vật chủ. Ví dụ, các dòng tế bào động vật có vú được điều chỉnh để phát triển trong thể vẫn có thể là hữu ích. Các ví dụ khác về các dòng tế bào chủ động vật có vú hữu ích là dòng CV1 thận khỉ được biến đổi bởi SV40 (COS-7); dòng thận thai người (các tế bào 293 hoặc 293 như được mô tả, ví dụ, trong Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); các tế bào thận chuột hamster non (BHK); các tế bào sertoli chuột (các tế bào TM4 như được mô tả, ví dụ, trong Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); các tế bào thận khỉ (CV1); các tế bào thận khỉ xanh châu Phi (VERO-76); các tế bào ung thư biểu mô cổ người (HELA); các tế bào thận chó (MDCK; các tế bào gan họ chuột trâu (BRL 3A); các tế bào phổi người (W138); các tế bào gan người (Hep G2); u vú chuột (MMT 060562); các tế bào TRI, như được mô tả, ví dụ, trong Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982); các tế bào MRC 5; và các tế bào FS4. Các dòng tế bào chủ động vật có vú hữu ích khác bao gồm các tế bào buồng trứng chuột hamster Trung Quốc (CHO), bao gồm các tế bào DHFR$^-$ CHO (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); và các dòng tế bào u tủy như Y0, NS0 và Sp2/0. Đối với việc xem xét về các dòng tế bào chủ động vật có vú cố định phù hợp đối với việc sản xuất kháng thể, xem, ví dụ, Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

Các kháng thể với các đặc tính phụ thuộc pH có thể là đã thu được sử dụng các phương pháp sàng lọc và/hoặc các phương pháp đột biến, ví dụ, như được mô tả ở WO 2009/125825. Các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm quy trình bất kỳ bởi trong đó kháng thể có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH được đồng nhất trong quần thể các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên cụ thể. Theo các phương án đã biết, các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm việc xác định một hoặc nhiều thông số gắn kết (ví dụ, KD hoặc Kd) của các kháng thể cá thể trong quần thể ban đầu của các kháng thể cả ở pH tính axit và trung tính. Các thông số gắn kết của các kháng thể có thể được đo sử dụng, ví dụ, cộng hưởng plasmon bề mặt, hoặc phương pháp phân tích bất kỳ cho phép đối với sự đánh giá về số lượng hoặc chất

lượng của các đặc tính gắn kết của một kháng thể đối với kháng nguyên cụ thể. Theo các phương án đã biết, các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm việc nhận dạng kháng thể gắn kết với kháng nguyên với tỷ lệ kd tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm việc nhận dạng kháng thể gắn kết với kháng nguyên với pH 5,8/pH 7,4 tỷ lệ kd là 2 hoặc lớn hơn. Ngoài ra, các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm việc nhận dạng kháng thể gắn kết với kháng nguyên với tỷ lệ kd tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, các phương pháp sàng lọc có thể bao gồm việc nhận dạng kháng thể gắn kết với kháng nguyên với pH 5,8/pH 7,4 tỷ lệ kd là 2 hoặc lớn hơn.

Theo phương án khác, các phương pháp đột biến có thể bao gồm việc kết hợp sự loại bỏ, sự thay thế, hoặc bổ sung axit amin trong chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể để tăng cường sự gắn kết phụ thuộc pH của kháng thể đến kháng nguyên. Theo các phương án đã biết, quá trình đột biến có thể được thực hiện trong một hoặc nhiều miền biến đổi của kháng thể, ví dụ, trong một hoặc nhiều HVR (ví dụ, các CDR). Ví dụ, quá trình đột biến có thể bao gồm việc thay thế axit amin trong một hoặc nhiều HVR (ví dụ, các CDR) của kháng thể với axit amin khác. Theo các phương án đã biết, quá trình đột biến có thể bao gồm việc thay thế một hoặc nhiều axit amin trong ít nhất một HVR (ví dụ, CDR) của kháng thể với histidin. Theo các phương án đã biết, "gắn kết phụ thuộc pH được tăng cường" có nghĩa là phiên bản được biến đổi của kháng thể biểu hiện tỷ lệ kd tính axit/trung tính lớn hơn, hoặc tỷ lệ kd tính axit/trung tính lớn hơn, hơn phiên bản "thể mẹ" gốc (tức là, ít phụ thuộc pH) của kháng thể trước cho quá trình đột biến. Theo các phương án đã biết, phiên bản được biến đổi của kháng thể có tỷ lệ kd tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án đã biết, phiên bản được biến đổi của kháng thể có pH 5,8/pH 7,4 tỷ lệ kd là 2 hoặc lớn hơn. Ngoài ra, phiên bản được biến đổi của kháng thể có tỷ lệ kd tính axit/trung tính là 2 hoặc lớn hơn. Theo các phương án nữa, phiên bản được biến đổi của kháng thể có pH 5,8/pH 7,4 tỷ lệ kd là 2 hoặc lớn hơn.

Các kháng thể đa dòng tốt hơn là được sinh ra trong các động vật bởi nhiều lần tiêm dưới da (sc) hoặc trong màng bụng (ip) kháng nguyên và tá dược liên quan. Nó có thể là hữu ích để tiếp hợp kháng nguyên liên quan đến protein mà là chất kháng nguyên trong các loài cần được gây miễn dịch, ví dụ, hemocyanin của con hà, albumin huyết thanh, thyroglobulin bò, hoặc chất ức chế trypsin đỗ tương sử dụng tác nhân hai chức năng hoặc tạo dẫn xuất, ví dụ, este của maleimidobenzoyl sulfosuccinimit (tiếp hợp thông qua các gốc xystein), N-hydroxysuccinimit (thông qua các gốc lysin), glutaraldehyt, suxinic anhydrit, $SOCl_2$, hoặc $R^1N=C=NR$, trong đó R và R^1 là các nhóm alkyl khác.

Các động vật (thường là động vật có vú không phải người) được gây miễn dịch kháng lại kháng nguyên, sự tiếp hợp chất kháng nguyên, hoặc các dẫn xuất bằng cách kết hợp, ví dụ, 100 micro g hoặc 5 micro g của protein hoặc thể tiếp hợp (đối với thỏ hoặc chuột, tương ứng) với 3 thể tích của tá dược đầy đủ của Freund và được tiêm dung dịch trong da ở nhiều vị trí. Một tháng sau các động vật được đưa lên với 1/5 đến 1/10 số lượng gốc của peptit hoặc thể tiếp hợp trong tá dược đầy đủ của Freund bởi sự tiêm dưới da ở nhiều vị trí. Bảy đến 14 ngày sau các động vật được lấy máu và huyết thanh được thử nghiệm đối với độ chuẩn kháng thể. Các động vật được đưa lên cho đến khi ổn định độ chuẩn. Tốt hơn là, động vật được đưa lên với tiếp hợp của cùng kháng nguyên, nhưng được ghép đôi đến protein khác và/hoặc thông qua chất phản ứng liên kết chéo khác. Sự tiếp hợp cũng có thể được làm khi nuôi cấy tế bào tái tổ hợp như các dung hợp protein. Ngoài ra, các tác nhân kết tập như phèn được sử dụng phù hợp để tăng cường đáp ứng miễn dịch.

Các kháng thể đơn dòng đã thu được từ quần thể của các kháng thể đồng nhất căn bản, tức là, các kháng thể cá thể bao gồm quần thể là giống hệt loại trừ đối với các đột biến xuất hiện tự nhiên có thể tồn tại và/hoặc các biến đổi sau dịch mã (ví dụ, các sự đồng phân hóa, các sự tạo nhóm amin) mà có thể có mặt ở các số lượng nhỏ. Do đó, bộ thuật ngữ "đơn dòng" được điều chỉnh biểu thị đặc trưng của kháng thể khi không là hỗn hợp của các kháng thể riêng biệt.

Ví dụ, các kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra sử dụng phương pháp tế bào lai lần đầu tiên được mô tả bởi Kohler et al., Nature 256(5517):495-497 (1975). Trong phương pháp tế bào lai, chuột hoặc động vật chủ thích hợp khác, như chuột hamster, được gây miễn dịch như được mô tả trên đây để gây ra các tế bào bạch huyết mà sản xuất hoặc có khả năng sản xuất các kháng thể mà cụ thể là sẽ gắn kết với protein sử dụng cho sự tạo miễn dịch. Ngoài ra, các tế bào bạch huyết có thể là được gây miễn dịch *in vitro*.

Tác nhân gây miễn dịch nhìn chung sẽ bao gồm protein kháng nguyên hoặc dung hợp biến thể của chúng. Nhìn chung, hoặc các tế bào bạch huyết huyết ngoại vi (PBL) được sử dụng nếu các tế bào của gốc người được mong đợi, hoặc các tế bào lá lách hoặc các tế bào hạch bạch cầu được sử dụng nếu các nguồn động vật có vú không phải người được mong đợi. Các tế bào bạch huyết sau đó được dung hợp với dòng tế bào bất tử bằng cách sử dụng tác nhân dung hợp phù hợp, như polyetylen glycol, để tạo thành tế bào lai (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103).

Các dòng tế bào được làm bất tử thường được biến đổi từ tế bào động vật có vú, cụ thể là các tế bào u tủy của loài gặm nhấm, gốc bò và người. Thông thường, các dòng tế bào u tủy họ chuột hoặc chuột được sử dụng. Các tế bào tế bào lai do đó được tạo ra bằng cách nuôi cấy và sinh trưởng thành trong môi trường cấy phù hợp mà tốt hơn là chứa một hoặc nhiều chất ức chế sự phát triển hoặc sự tồn tại của các tế bào u tủy thể mẹ, không được dung hợp. Ví dụ, nếu các tế bào u tủy thể mẹ thiếu enzym hypoxanthin guanin phosphoribosyl transferaza (HGPRT hoặc HPRT), môi trường cấy đối với các tế bào lai điển hình sẽ bao gồm hypoxanthin, aminopterin, và thymidin (môi trường HAT), mà là các chất ngăn ngừa sự phát triển của các tế bào thiếu hụt HGPRT.

Các tế bào u tủy được làm cho bất tử thích hợp là các tế bào hợp nhất hiệu quả, hỗ trợ phù hợp việc sản xuất mức độ cao của kháng thể bởi các tế bào sản xuất kháng thể được chọn, và nhạy cảm với môi trường như môi trường HAT. Trong số này, thích hợp là các dòng u tủy họ nhà chuột, như các dòng có nguồn

gốc từ MOPC-21 và MPC-11 các khối u chuột có sẵn từ Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA, và các tế bào SP-2 (và các dẫn xuất của chúng, ví dụ, X63-Ag8-653) có sẵn từ American Type Culture Collection, Manassas, Virginia USA. Các dòng tế bào lai heteromyeloma chuột-người và u tủy người cũng đã từng được mô tả đối với việc sản xuất của các kháng thể người đơn dòng (Kozbor Et al. J. Immunol. 133(6):3001-3005 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 51-63 (1987)).

Môi trường cấy trong đó các tế bào thể lai đang phát triển được thử nghiệm đối với việc sản xuất của các kháng thể đơn dòng được định hướng kháng lại kháng nguyên. Tốt hơn là, tính đặc hiệu gắn kết của các kháng thể đơn dòng được sản xuất bởi các tế bào thể lai được xác định bằng sự kết tủa miễn dịch hoặc bằng thử nghiệm gắn kết *in vitro*, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết với enzym (ELISA). Các kỹ thuật và các thử nghiệm này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, ái lực gắn kết có thể được xác định bởi Scatchard analysis of Munson, Anal. Biochem. 107 (1):220-239 (1980).

Sau khi các tế bào thể lai được nhận diện mà chúng sản xuất các kháng thể có tính đặc hiệu ái lực, và/hoặc hoạt tính được mong đợi, thì các dòng vô tính này có thể được tạo dòng phụ bằng cách pha loãng giới hạn và sinh trưởng bằng các phương pháp chuẩn (Goding, nêu trên). Môi trường cấy phù hợp đối với mục đích này bao gồm, ví dụ, môi trường D-MEM hoặc RPMI-1640. Ngoài ra, các tế bào thể lai có thể đã trưởng thành *in vivo* như các khối u trong động vật có vú.

Các kháng thể đơn dòng được tiết ra bởi các dòng phụ được tách phù hợp từ môi trường cấy, dịch bệnh cổ trướng, hoặc huyết thanh bởi các quy trình tinh chế globulin miễn dịch thông thường như, ví dụ, protein A-Sepharoza, sắc ký canxi photphat hydrat trong tự nhiên, điện di gel, sự thẩm tách, hoặc sắc ký ái lực.

Các kháng thể có thể được sản xuất bằng cách gây miễn dịch động vật chủ thích hợp để kháng lại kháng nguyên. Theo một phương án, kháng nguyên là polypeptit bao gồm myostatin có chiều dài toàn vẹn. Theo một phương án, kháng nguyên là polypeptit bao gồm myostatin tiềm ẩn. Theo một phương án, kháng nguyên là polypeptit bao gồm propeptit myostatin. Theo một phương án, kháng nguyên là polypeptit bao gồm vùng tương ứng với các axit amin tại các vị trí 21 đến 100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Theo một phương án, kháng nguyên là polypeptit bao gồm các axit amin tại các vị trí 21-80, 41-100, 21-60, 41-80, 61-100, 21-40, 41-60, 61-80, hoặc 81-100 của propeptit myostatin (SEQ ID NO: 78). Cũng được bao gồm theo sáng chế là các kháng thể được sản xuất bằng cách gây miễn dịch động vật kháng lại kháng nguyên. Các kháng thể có thể kết hợp các đặc tính bất kỳ, riêng lẻ hoặc kết hợp, như được mô tả ở " Các kháng thể kháng myostatin được lấy làm ví dụ" trên đây.

Vùng Fc có thể đã thu được bằng cách tái pha loãng phân đoạn hấp phụ trên cột protein A sau khi phân cắt phân đoạn kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 hoặc sử dụng proteaza như pepsin. Proteaza không bị giới hạn cụ thể khi nó có thể cắt toàn bộ độ dài kháng thể để Fab và F(ab')2 sẽ được sản xuất theo cách hạn chế bằng cách thiết lập thích hợp các điều kiện phản ứng enzym như pH, và các ví dụ bao gồm pepsin và papain.

Hơn thế nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc, trong đó bao gồm bước đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc. Theo một vài khía cạnh, polypeptit được sản xuất là kháng thể. Theo các phương án đã biết, kháng thể là kháng thể khảm, hoặc kháng thể được làm tương thích với người. Theo một vài khía cạnh, polypeptit được sản xuất là protein dung hợp Fc.

Theo các phương án đã biết, phương pháp sản xuất bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb

khỉ của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb khỉ được tăng cường khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, việc sản xuất phương pháp bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo hoạt tính gắn kết Fc gama RIIIa khỉ của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIIa khỉ được giảm khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, việc sản xuất phương pháp bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb người của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb người được tăng cường khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, việc sản xuất phương pháp bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các hoạt tính gắn kết Fc gama RIIIa người của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIIa người được giảm khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, việc sản xuất phương pháp bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa người (kiểu H) của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt

tính gắn kết Fc gama RIIa người (kiểu H) được giảm khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, việc sản xuất phương pháp bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất sự biến đổi axit amin với vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa người (kiểu R) của polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa người (kiểu R) được giảm khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Theo một khía cạnh, ít nhất một axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, một axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, tại vị trí 236.

Theo khía cạnh khác, ít nhất hai axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, các sự biến đổi bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 264, 266, 267, 268, 271, 295, 298, 325, 326, 327, 328, 330, 331, 332, 334, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ

xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, ít nhất hai axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, các sự biến đổi bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 231, 232, 235, 239, 268, 295, 298, 326, 330, và 396, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, ít nhất hai axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, các sự biến đổi bao gồm: (a) sự biến đổi axit amin tại vị trí 236, và (b) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 268, 295, 326, và 330, theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, các axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, tại các vị trí bất kỳ nêu trong điểm (1)-(37) sau: (1) tại các vị trí 231, 236, 239, 268 và 330; (2) tại các vị trí 231, 236, 239, 268, 295 và 330; (3) tại các vị trí 231, 236, 268 và 330; (4) tại các vị trí 231, 236, 268, 295 và 330; (5) tại các vị trí 232, 236, 239, 268, 295 và 330; (6) tại các vị trí 232, 236, 268, 295 và 330; (7) tại các vị trí 232, 236, 268 và 330; (8) tại các vị trí 235, 236, 268, 295, 326 và 330; (9) tại các vị trí 235, 236, 268, 295 và 330; (10) tại các vị trí 235, 236, 268 và 330; (11) tại các vị trí 235, 236, 268, 330 và 396; (12) tại các vị trí 235, 236, 268 và 396; (13) tại các vị trí 236, 239, 268, 295, 298 và 330; (14)

tại các vị trí 236, 239, 268, 295, 326 và 330; (15) tại các vị trí 236, 239, 268, 295 và 330; (16) tại các vị trí 236, 239, 268, 298 và 330; (17) tại các vị trí 236, 239, 268, 326 và 330; (18) tại các vị trí 236, 239, 268 và 330; (19) tại các vị trí 236, 239, 268, 330 và 396; (20) tại các vị trí 236, 239, 268 và 396; (21) tại các vị trí 236 và 268; (22) tại các vị trí 236, 268 và 295; (23) tại các vị trí 236, 268, 295, 298 và 330; (24) tại các vị trí 236, 268, 295, 326 và 330; (25) tại các vị trí 236, 268, 295, 326, 330 và 396; (26) tại các vị trí 236, 268, 295 và 330; (27) tại các vị trí 236, 268, 295, 330 và 396; (28) tại các vị trí 236, 268, 298 và 330; (29) tại các vị trí 236, 268, 298 và 396; (30) tại các vị trí 236, 268, 326 và 330; (31) tại các vị trí 236, 268, 326, 330 và 396; (32) tại các vị trí 236, 268 và 330; (33) tại các vị trí 236, 268, 330 và 396; (34) tại các vị trí 236, 268 và 396; (35) tại các vị trí 236 và 295; (36) tại các vị trí 236, 330 và 396; và (37) tại các vị trí 236 và 396; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh nữa, sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, được chọn ở mỗi vị trí từ nhóm bao gồm: (a) Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 231; (b) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 232; (c) Asp tại vị trí 233; (d) Trp, Tyr tại vị trí 234; (e) Trp tại vị trí 235; (f) Ala, Asp, Glu, His, Ile, Leu, Met, Asn, Gln, Ser, Thr, Val tại vị trí 236; (g) Asp, Tyr tại vị trí 237; (h) Glu, Ile, Met, Gln, Tyr tại vị trí 238; (i) Ile, Leu, Asn, Pro, Val tại vị trí 239; (j) Ile tại vị trí 264; (k) Phe tại vị trí 266; (l) Ala, His, Leu tại vị trí 267; (m) Asp, Glu tại vị trí 268; (n) Asp, Glu, Gly tại vị trí 271; (o) Leu tại vị trí 295; (p) Leu tại vị trí 298; (q) Glu, Phe, Ile, Leu tại vị trí 325; (r) Thr tại vị trí 326; (s) Ile, Asn tại vị trí 327; (t) Thr tại vị trí 328; (u) Lys, Arg tại vị trí 330; (v) Glu tại vị trí 331; (w) Asp tại vị trí 332; (x) Asp, Ile, Met,

Val, Tyr tại vị trí 334; và (y) Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh nữa, sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, được chọn ở mỗi vị trí từ nhóm bao gồm: (a) Gly, Thr tại vị trí 231; (b) Asp tại vị trí 232; (c) Trp tại vị trí 235; (d) Asn, Thr tại vị trí 236; (e) Val tại vị trí 239; (f) Asp, Glu tại vị trí 268; (g) Leu tại vị trí 295; (h) Leu tại vị trí 298; (i) Thr tại vị trí 326; (j) Lys, Arg tại vị trí 330, và (k) Lys, Met tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asn tại vị trí 236, Glu tại vị trí 268, Lys tại vị trí 330, và Met tại vị trí 396; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Thr tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong

phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, Thr tại vị trí 326, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Trp tại vị trí 235, Asn tại vị trí 236, Asp tại vị trí 268, Leu tại vị trí 295, Thr tại vị trí 326, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU.

Theo một khía cạnh, ít nhất một axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 234, 238, 250, 264, 267, 307, và 330 theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, một axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, tại vị trí 238.

Theo khía cạnh khác, ít nhất hai axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, các sự biến đổi bao gồm: (i) sự biến đổi axit amin tại vị trí 238, và (ii) ít nhất sự biến đổi axit amin của ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 234, 250, 264, 267, 307, và 330 theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Theo khía cạnh khác, các axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, tại các vị trí bất kỳ nêu trong điểm (1)-(9) sau: (1)

tại các vị trí 234, 238, 250, 307 và 330; (2) tại các vị trí 234, 238, 250, 264, 307 và 330; (3) tại các vị trí 234, 238, 250, 264, 267, 307 và 330; (4) tại các vị trí 234, 238, 250, 267, 307 và 330; (5) tại các vị trí 238, 250, 264, 307 và 330; (6) tại các vị trí 238, 250, 264, 267, 307 và 330; (7) tại các vị trí 238, 250, 267, 307 và 330; (8) tại các vị trí 238, 250 và 307; và (9) tại các vị trí 238, 250, 307 và 330; theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh nữa, sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, được chọn ở mỗi vị trí từ nhóm bao gồm: (a) Tyr tại vị trí 234; (b) Asp tại vị trí 238; (c) Val tại vị trí 250; (d) Ile tại vị trí 264; (e) Ala tại vị trí 267; (f) Pro tại vị trí 307; và (g) Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, và Pro tại vị trí 307; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm

vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, là: Tyr tại vị trí 234, Asp tại vị trí 238, Val tại vị trí 250, Ile tại vị trí 264, Ala tại vị trí 267, Pro tại vị trí 307, và Lys tại vị trí 330; theo hệ đánh số EU. Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb khỉ xynomolgus (SEQ ID NO:223). Theo các phương án đã biết, Fc gama RIIb có trình tự của Fc gama RIIb người (ví dụ, các SEQ ID NO: 212, 213, hoặc 214).

Hơn thế nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc, trong đó bao gồm đưa vào ít nhất hai sự biến đổi axit amin cho vùng Fc gốc.

Theo các phương án đã biết, phương pháp sản xuất để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây bao gồm các bước sau: (a) điều chế polypeptit bao gồm vùng Fc gốc; (b) đưa vào ít nhất hai sự biến đổi axit amin cho vùng Fc gốc trong polypeptit; (c) đo các pI của polypeptit bao gồm vùng Fc

gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc ở bước (b); và (d) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường khi so với polypeptit tương ứng bao gồm vùng Fc gốc.

Theo một khía cạnh, ít nhất hai axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 285, 311, 312, 315, 318, 333, 335, 337, 341, 342, 343, 384, 385, 388, 390, 399, 400, 401, 402, 413, 420, 422, và 431, theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, polypeptit được sản xuất bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, bao gồm ít nhất hai sự thay đổi axit amin của ít nhất hai vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 311, 341, 343, 384, 399, 400, 401, 402, và 413, theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh khác, các axit amin được biến đổi trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, tại các vị trí bất kỳ nêu trong điểm từ (1) đến (10) sau: (1) tại các vị trí 311 và 341; (2) tại các vị trí 311 và 343; (3) tại các vị trí 311, 343 và 413; (4) tại các vị trí 311, 384 và 413; (5) tại các vị trí 311 và 399; (6) tại các vị trí 311 và 401; (7) tại các vị trí 311 và 413; (8) tại các vị trí 400 và 413; (9) tại các vị trí 401 và 413; và (10) tại các vị trí 402 và 413; theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 400 và Lys tại vị trí 413; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311 và Lys tại vị trí 413; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311 và Arg tại vị trí 399; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311 và Arg tại vị trí 343; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit

amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311 và Arg tại vị trí 413; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311, Arg tại vị trí 343, và Arg tại vị trí 413; theo hệ đánh số EU. Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, là: Arg tại vị trí 311, Arg tại vị trí 384, và Arg tại vị trí 413; theo hệ đánh số EU.

Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với pI đã tăng cường, được chọn từ Lys hoặc Arg ở mỗi vị trí.

Theo khía cạnh nữa, các sự biến đổi axit amin trong các phương pháp sản xuất nêu trên được chọn từ sự biến đổi riêng lẻ bất kỳ, sự kết hợp của các sự biến đổi riêng lẻ, hoặc sự biến đổi kết hợp được mô tả ở các Bảng 14-30.

Tùy ý, các bước bổ sung tiếp theo có thể được bao gồm trong các phương pháp nêu trên để sản xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi, khi polypeptit còn bao gồm miền gắn kết kháng nguyên: (e) đánh giá dược động học của kháng nguyên trong huyết tương, sau khi cung cấp polypeptit bao gồm vùng Fc gốc và polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong các động vật như chuột, họ chuột, thỏ, chó, khỉ và người; và (f) chọn lựa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi với khả năng của đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương được tăng cường khi so với polypeptit bao gồm vùng Fc gốc.

Các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được sản xuất bởi các phương pháp bất kỳ nêu trên hoặc các phương pháp khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật được bao gồm theo sáng chế.

C. Các thử nghiệm

Các kháng thể kháng myostatin được đề cập ở đây có thể được đồng nhất, được sàng lọc đối với, hoặc được đặc trưng đối với các đặc tính lý/hóa của chúng

và/hoặc các hoạt tính sinh học bằng các thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây có thể được đồng nhất, được sàng lọc đối với, hoặc được đặc trưng đối với các đặc tính lý/hóa của chúng và/hoặc các hoạt tính sinh học bằng các thử nghiệm khác nhau được mô tả ở đây hoặc ngoài ra đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

1. Các thử nghiệm gắn kết và các thử nghiệm khác

Theo một khía cạnh, kháng thể theo sáng chế được thử nghiệm đối với hoạt tính gắn kết kháng nguyên của nó, bằng các phương pháp đã biết như ELISA, thẩm tách Western, BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), v.v.. Theo một khía cạnh, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế được thử nghiệm đối với hoạt tính gắn kết thụ thể Fc của nó, bằng các phương pháp đã biết như BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), v.v..

Theo khía cạnh khác, các thử nghiệm cạnh tranh có thể được sử dụng để nhận dạng kháng thể cạnh tranh để gắn kết với myostatin với kháng thể kháng myostatin bất kỳ được mô tả ở đây. Theo các phương án đã biết, khi kháng thể cạnh tranh này có mặt vượt quá giới hạn, nó phong bế (ví dụ, làm giảm) sự gắn kết của kháng thể tham khảo với myostatin bởi ít nhất 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% hoặc nhiều hơn. Theo một vài ví dụ, gắn kết được ức chế bởi ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc nhiều hơn. Theo các phương án đã biết, kháng thể cạnh tranh gắn kết với cùng epitop này (ví dụ, mạch thẳng hoặc epitop đối xứng) mà được gắn kết bằng kháng thể kháng myostatin được mô tả ở đây (ví dụ, kháng thể kháng myostatin được mô tả ở các Bảng 2a, 11a, hoặc 13). Theo các khía cạnh nữa, kháng thể tham chiếu có cặp VH và VL được mô tả ở Bảng 2a, 11a, hoặc 13. Các phương pháp được lấy làm ví dụ chi tiết đối với sự sắp xếp epitop để trong đó các kháng thể gắn kết được cung cấp trong Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols" in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Human Press, Totowa, NJ).

Trong thử nghiệm cạnh tranh được lấy làm ví dụ, myostatin tiềm ẩn được cố định hoặc propeptit myostatin được ủ trong dung dịch bao gồm kháng thể được dán nhãn thứ nhất gắn kết với myostatin và kháng thể không được dán nhãn thứ hai đang được thử nghiệm về khả năng của nó cạnh tranh với kháng thể thứ nhất để gắn kết với myostatin. Kháng thể thứ hai có thể có mặt trong tế bào lai dịch nổi. Để làm đối chứng, myostatin được cố định và ủ trong dung dịch bao gồm kháng thể được dán nhãn thứ nhất, nhưng không phải kháng thể không được dán nhãn thứ hai. Sau khi ủ dưới các điều kiện cho phép để gắn kết kháng thể thứ nhất với myostatin, kháng thể dư không gắn kết được loại bỏ, và số lượng của nhãn liên kết với myostatin được cố định được đo. Nếu số lượng của nhãn liên kết với myostatin được cố định được giảm về căn bản trong mẫu thử nghiệm tương ứng với mẫu đối chứng, thì điều đó biểu thị rằng kháng thể thứ hai đang cạnh tranh với kháng thể thứ nhất để gắn kết với myostatin. Xem, Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Các thử nghiệm để xác định hoạt tính gắn kết của một polypeptit chứa vùng Fc biến đổi về phía một hoặc nhiều họ thành viên Fc gama R được mô tả ở đây hoặc thử nghiệm khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các thử nghiệm gắn kết này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở phân tích BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), trong đó sử dụng hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR), sàng lọc bằng ALPHA (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay: ALPHA), ELISA, và phân loại tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (FACS) (Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11): 4005-4010).

Theo một phương án, phân tích BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) có thể được sử dụng để đánh giá dù có hoạt tính gắn kết của một polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được tăng cường, hoặc được duy trì hoặc được giảm về thành viên họ Fc gama R cụ thể, ví dụ, bằng việc quan sát dù có sự giảm hoặc tăng về hằng số phân ly (KD) giá trị đã thu được từ sự phân tích cảm biến sensorgram, trong đó các Fc gama R khác nhau được trải qua sự tương tác như một chất đang

được phân tích với các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cố định hoặc được bắt trên vi mạch cảm biến sử dụng các phương pháp đã biết và các chất phản ứng như Protein A, Protein L, Protein A/G, Protein G, chuỗi các kháng thể kháng lamda, chuỗi các kháng thể kháng kapa, các peptit kháng nguyên, các protein kháng nguyên). Các sự biến đổi về hoạt tính gắn kết cũng có thể được xác định bằng cách so sánh sự thay đổi về giá trị đơn vị cộng hưởng (RU) trên cảm biến sensorgram trước và sau khi một hoặc nhiều kiểu của các Fc gama R được trải qua sự tương tác như chất đang được phân tích với các polypeptit được bắt bao gồm vùng Fc biến đổi. Ngoài ra, Fc gama R có thể được cố định hoặc được bắt trên các vi mạch cảm biến, và các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được sử dụng như một chất đang được phân tích.

Trong phân tích BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), một trong số các chất (phối tử) trong sự quan sát của sự tương tác được cố định trên một màng mỏng màu vàng trên vi mạch cảm biến, và bởi ánh sáng chói từ mặt đối chiều của vi mạch cảm biến để phản xạ toàn phần chiếm chỗ ở bề mặt chung giữa màng mỏng màu vàng và thủy tinh, một phần của cường độ phản xạ giảm được tạo thành ở một phần của ánh sáng phản chiếu (tín hiệu SPR). Khi một trong số các chất khác (chất đang được phân tích) khi quan sát về sự tương tác được thực hiện cho dòng trên bề mặt vi mạch cảm biến và phối tử gắn kết với chất đang được phân tích, khối lượng của các phối tử phân tử tăng cường được cố định và chỉ số khúc xạ của dung môi trên bề mặt vi mạch cảm biến thay đổi. Vị trí của sự thay đổi tín hiệu SPR dẫn tới sự thay đổi về chỉ số khúc xạ này (mặt khác, vị trí tín hiệu trở lại khi gắn kết này phân ly). Hệ thống BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) biểu thị số lượng của sự thay đổi nêu trên, hoặc cụ thể hơn sự biến đổi theo thời gian của khối lượng bằng biểu đồ thay đổi về khối lượng trên bề mặt vi mạch cảm biến trên tung độ như dữ liệu đo (cảm biến sensorgram). Số lượng của chất đang được phân tích được gắn kết với phối tử được giữ lại trên bề mặt vi mạch cảm biến được xác định từ cảm biến sensorgram. Các thông số động lực như các hằng số tốc độ kết hợp (ka) và các hằng số tốc độ phân ly (kd) được xác định từ các đường

cong của cảm biến sensorgram, và các hằng số phân ly (KD) được xác định từ tỷ lệ của các hằng số này. Theo phương pháp BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), phương pháp để đo sự ức chế tốt hơn là được sử dụng. Ví dụ về phương pháp để đo sự ức chế được mô tả ở Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(11):4005-4010 (2006).

Việc sàng lọc ALPHA được thực hiện bởi kỹ thuật ALPHA sử dụng hai hạt, chất cho và chất nhận, dựa vào các nguyên lý sau. Các tín hiệu huỳnh quang được phát hiện chỉ khi các phân tử được gắn kết với các hạt chất cho tương tác lý học với các phân tử được gắn kết với các hạt chất nhận, và hai hạt ở trạng thái gần với nhau. Chất gây cảm quang nhạy kích thích laze trong các hạt chất cho biến đổi oxy xung quanh thành oxy đơn tuyến trạng thái kích thích. Oxy đơn tuyến được phân tán xung quanh các hạt chất cho, và khi nó đạt đến các hạt chất nhận gần kề, phản ứng phát quang hóa học được gây ra trong các hạt, và cuối cùng ánh sáng được phát xạ. Khi các phân tử được gắn kết với các hạt chất cho không tương tác với các phân tử được gắn kết với các hạt chất nhận, phản ứng phát quang hóa học không được đưa vào vì oxy đơn được sản xuất bởi các hạt chất cho không đạt tới các hạt chất nhận.

Ví dụ, phức hợp polypeptit được biotin hóa được gắn kết với các hạt chất cho, và thụ thể Fc gama được bắt với glutathion S transferaza (GST) được liên kết với các hạt chất nhận. Khi vắng mặt phức hợp polypeptit cạnh tranh bao gồm vùng Fc biến đổi, phức hợp polypeptit bao gồm vùng Fc gốc tương tác với thụ thể Fc gama và tạo ra các tín hiệu từ 520 đến 620 nm. Phức hợp polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi cạnh tranh không tạo đích với phức hợp polypeptit bao gồm vùng Fc gốc đối với sự tương tác với thụ thể Fc gama. Các hoạt tính gắn kết tương đối có thể được xác định bằng cách xác định số lượng giảm về sự phát huỳnh quang được quan sát do sự cạnh tranh. Sự biotinyl hóa của phức hợp các polypeptit như các kháng thể sử dụng Sulfo-NHS-biotin và lỗ này là đã biết. Phương pháp biểu hiện thụ thể Fc gama và GST trong tế bào mang gen dung hợp được sản xuất bằng cách hợp nhất polynucleotit mã hóa thụ thể Fc gama trong cấu trúc với polynucleotit

mã hóa GST trong vectơ có thể biểu hiện, và thực hiện sự tinh chế sử dụng cột glutathion được chấp nhận thích hợp như phương pháp bắt thụ thể Fc gama với GST. Các tín hiệu đã thu được tốt hơn được phân tích, ví dụ, bằng cách điều chỉnh chúng đến kiểu cạnh tranh một vị trí mà sử dụng sự phân tích tuyến tính không hồi quy sử dụng phần mềm như GRAPHPAD PRISM (GraphPad, San Diego).

Vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama R giảm đề cập đến vùng Fc gắn kết với Fc gama R với hoạt tính gắn kết cơ bản yếu hơn vùng Fc gốc khi các thử nghiệm được tiến hành với lượng về cơ bản như thực hiện với vùng Fc gốc và vùng Fc biến đổi tương ứng. Hơn thế nữa, vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama R được tăng cường đề cập đến vùng Fc gắn kết với Fc gama R với hoạt tính gắn kết cơ bản khỏe hơn vùng Fc gốc tương ứng khi các thử nghiệm được tiến hành với lượng về cơ bản như thực hiện với vùng Fc gốc và vùng Fc biến đổi. Vùng Fc biến đổi với hoạt tính gắn kết Fc gama R duy trì đề cập đến vùng Fc gắn kết với Fc gama R với hoạt tính gắn kết tương ứng với hoặc về cơ bản không khác với hoạt tính gắn kết của vùng Fc gốc khi các thử nghiệm được tiến hành về với lượng về cơ bản như thực hiện với vùng Fc gốc tương ứng và polypeptit chứa vùng Fc biến đổi.

Dù có hay không các hoạt tính gắn kết của vùng Fc về phía các Fc gama R khác nhau được tăng cường hoặc được giảm có thể được xác định từ sự tăng cường hoặc sự giảm về số lượng của gắn kết của các Fc gama R khác nhau với vùng Fc, mà được xác định theo phương pháp đo nêu trên. Ở đây, số lượng của gắn kết của các Fc gama R khác nhau với vùng Fc có thể được đánh giá như giá trị đã thu được bằng cách tách sự khác biệt về các giá trị RU của các cảm biến sensorgram đã thay đổi trước và sau sự tương tác của các Fc gama R khác nhau như chất đang được phân tích với vùng Fc, bởi sự khác biệt về các giá trị RU của các cảm biến sensorgram đã thay đổi trước và sau khi bắt giữ vùng Fc với các vi mạch cảm biến.

Theo sáng chế, hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường tốt hơn là có nghĩa là, ví dụ, mà tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIb] trong các giá trị KD

được đo bằng phương pháp đo nêu trên tốt hơn là trở thành 2,0 hoặc lớn hơn, 3,0 hoặc lớn hơn, 4,0 hoặc lớn hơn, 5,0 hoặc lớn hơn, 6,0 hoặc lớn hơn, 7,0 hoặc lớn hơn, 8,0 hoặc lớn hơn, 9,0 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, 15 hoặc lớn hơn, 20 hoặc lớn hơn, 25 hoặc lớn hơn, 30 hoặc lớn hơn, 35 hoặc lớn hơn, 40 hoặc lớn hơn, 45 hoặc lớn hơn, hoặc Even 50 hoặc lớn hơn, 55 hoặc lớn hơn, 60 hoặc lớn hơn, 65 hoặc lớn hơn, 70 hoặc lớn hơn, 75 hoặc lớn hơn, 80 hoặc lớn hơn, 85 hoặc lớn hơn, 90 hoặc lớn hơn, 95 hoặc lớn hơn, hoặc 100 hoặc lớn hơn.

Giá trị KD (mol/L) của vùng Fc biến đổi được mô tả ở đây đối với Fc gama RIIb tốt hơn là nhỏ hơn của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb, và có thể là, ví dụ, $2,0 \times 10^{-6}$ M hoặc nhỏ hơn, $1,0 \times 10^{-6}$ M hoặc nhỏ hơn, $9,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $8,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $7,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $6,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $5,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $4,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $3,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $2,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $1,0 \times 10^{-7}$ M hoặc nhỏ hơn, $9,0 \times 10^{-8}$ M hoặc nhỏ hơn, $8,0 \times 10^{-8}$ M hoặc nhỏ hơn, $7,0 \times 10^{-8}$ M hoặc nhỏ hơn, $6,0 \times 10^{-8}$ M hoặc nhỏ hơn, $5,0 \times 10^{-8}$ M hoặc nhỏ hơn.

Hơn thế nữa, vùng Fc biến đổi với độ chọn lọc gắn kết được tăng cường cho Fc gama RIIb so với Fc gama RIIa đề cập đến vùng Fc trong đó: (a) hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường, và hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa được duy trì hoặc được giảm; (b) hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường và hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa cũng được tăng cường, nhưng mức độ của sự tăng cường của hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa là thấp hơn mức độ của sự tăng cường về hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb; hoặc (c) hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được giảm và hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa cũng được giảm, nhưng mức độ của việc giảm về hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb là nhỏ hơn mức độ của việc giảm của hoạt tính gắn kết Fc gama RIIa. Dù có hay không vùng Fc biến đổi có độ chọn lọc gắn kết được cải thiện đối với Fc gama RIIb hơn đôi chút đối với Fc gama RIIa có thể được xác định, ví dụ, bằng cách so sánh tỷ lệ của giá trị KD đối với Fc gama RIIa với giá trị KD đối với Fc gama RIIb của vùng Fc biến đổi (tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối với Fc gama RIIa]/[giá trị KD của vùng Fc biến đổi đối

với Fc gama RIIb]), với tỷ lệ của giá trị KD đối với Fc gama RIIa với giá trị KD đối với Fc gama RIIb của vùng Fc gốc (tỷ lệ của [giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIa]/[giá trị KD của vùng Fc gốc đối với Fc gama RIIb]), mà được xác định theo các ví dụ nêu trên. Cụ thể là, khi tỷ lệ kd đối với vùng Fc biến đổi là lớn hơn của vùng Fc gốc, vùng Fc biến đổi có thể được xác định để có độ chọn lọc gắn kết được cải thiện đối với Fc gama RIIb hơn đôi chút đối với Fc gama RIIa khi so với vùng Fc gốc. Cụ thể là ở người, hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb là phù hợp để tương quan với hoạt tính gắn kết với Fc gama RIIa (kiểu R) hơn với Fc gama RIIa (kiểu H) do trình tự axit amin của Fc gama RIIb đóng góp giống hệt với Fc gama RIIa (kiểu R) cao hơn Fc gama RIIa (kiểu H). Do đó, việc tìm ra các sự biến đổi axit amin mà có thể tăng cường độ chọn lọc gắn kết với Fc gama RIIb người so với Fc gama RIIa người (kiểu R) là quan trọng đối với việc nâng cao độ chọn lọc gắn kết với Fc gama RIIb so với Fc gama RIIa ở người.

Khi vùng Fc biến đổi theo sáng chế có hoạt tính gắn kết cao hơn kháng lại Fc gama RIIb và hoạt tính gắn kết thấp hơn kháng Fc gama RIII (như Fc gama RIIIa hoặc Fc gama RIIIb) so với chúng của vùng Fc gốc, vùng Fc biến đổi có thể được đề cập đến là đặc trưng Fc gama RIIb.

2. Các thử nghiệm hoạt tính

Theo một khía cạnh, các thử nghiệm được cung cấp để nhận dạng các kháng thể kháng myostatin có hoạt tính sinh học. Hoạt tính sinh học có thể bao gồm, ví dụ, ức chế sự hoạt hóa của myostatin, phong bế sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn, ức chế sự chia tách phân giải protein của myostatin tiềm ẩn, phong bế sự tiếp cận của proteaza với myostatin tiềm ẩn, v.v... Các kháng thể có hoạt tính sinh học *in vivo* và/hoặc *in vitro* này cũng được cung cấp. Theo các phương án đã biết, kháng thể theo sáng chế được thử nghiệm đối với hoạt tính sinh học này.

Theo các phương án đã biết, dù có kháng thể thử nghiệm ức chế sự chia tách của myostatin tiềm ẩn được xác định bằng cách dò sản phẩm chia tách của

myostatin tiềm ẩn (myostatin) sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật như hiện tượng điện di chuyển, sắc ký, sự phân tích thẩm thấu miễn dịch, thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA), hoặc phép đo phổ khối, sau khi proteaza mà có thể tách myostatin tiềm ẩn được tiếp xúc với myostatin tiềm ẩn với sự có mặt hoặc không có mặt của kháng thể thử nghiệm (xem, ví dụ, Thies et al., Growth Factors 18(4):251-259 (2001)). Trong đó số lượng giảm của sản phẩm chia tách của myostatin tiềm ẩn (ví dụ, propeptit myostatin người) được phát hiện với sự có mặt của (hoặc tiếp theo tiếp xúc với) kháng thể thử nghiệm, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể có thể ức chế sự chia tách của myostatin tiềm ẩn. Theo các phương án đã biết, dù kháng thể thử nghiệm phong bế sự tiếp cận của proteaza với myostatin tiềm ẩn được xác định bằng các phương pháp đối với sự dò của các sự tương tác protein giữa proteaza và myostatin tiềm ẩn, ví dụ, ELISA hoặc BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký). Trong đó, sự tương tác được giảm giữa proteaza và myostatin tiềm ẩn được phát hiện với sự có mặt của (hoặc tiếp theo tiếp xúc với) kháng thể thử nghiệm, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể mà có thể phong bế sự tiếp cận của proteaza với myostatin tiềm ẩn.

Theo các phương án đã biết, dù có kháng thể thử nghiệm phong bế sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn được xác định bằng cách dò myostatin trưởng thành hoạt tính, ví dụ, hoạt tính của việc gắn kết với thụ thể myostatin, hoặc hoạt tính của sự truyền tính trạng tín hiệu trung gian trong tế bào biểu hiện thụ thể myostatin (ví dụ, ActRIIb). Các tế bào hữu ích đối với thử nghiệm này có thể là chúng để biểu hiện thụ thể myostatin nội sinh, ví dụ, các tế bào cơ L6, hoặc có thể là chúng mà được biến đổi về mặt di truyền học, tạm thời hoặc ổn định, để biểu hiện sự chuyển gen mã hóa thụ thể myostatin, ví dụ, thụ thể activin như thụ thể activin kiểu II (Thies et al, Supra). Sự gắn kết của myostatin với thụ thể myostatin có thể được phát hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm gắn kết thụ thể. Sự truyền tín hiệu thông qua myostatin có thể được phát hiện ở cấp độ bất kỳ trong chuỗi truyền tính trạng tín hiệu, ví dụ, bằng cách phân tích sự

phosphoryl hóa của polypeptit Smad, phân tích sự biểu hiện của gen điều hòa myostatin bao gồm gen báo cáo, hoặc đo sự tăng sinh của myostatin-phụ thuộc tế bào. Trong đó hoạt tính myostatin trưởng thành được giảm được phát hiện với sự có mặt của (hoặc tiếp theo tiếp xúc với) kháng thể thử nghiệm, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể có thể chặn sự giải phóng của myostatin trưởng thành từ myostatin tiềm ẩn.

Sự ức chế của sự hoạt hóa myostatin cũng có thể được phát hiện và/hoặc được đo sử dụng các phương pháp được thiết lập và được đưa ra làm ví dụ trong các ví dụ thực hiện. Sử dụng các thử nghiệm của chúng hoặc các kiểu phù hợp khác, các kháng thể thử nghiệm có thể được sàng lọc đối với chúng có khả năng ức chế sự hoạt hóa của myostatin. Theo các phương án đã biết, sự ức chế của sự hoạt hóa myostatin bao gồm ít nhất 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, hoặc 40% hoặc lớn hơn giảm về sự hoạt hóa myostatin trong thử nghiệm khi so với đối chứng âm tính dưới các tình trạng tương tự. Theo một số phương án, nó đề cập đến sự ức chế của sự hoạt hóa myostatin của ít nhất 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, hoặc 95% hoặc lớn hơn.

Theo khía cạnh khác, các thử nghiệm để nhận dạng các kháng thể kháng myostatin mà tạo thành phức hợp thể miễn dịch (tức là, phức hợp kháng nguyên-kháng thể) với myostatin được cung cấp. Các kháng thể có hoạt tính sinh học *in vivo* và/hoặc *in vitro* này cũng được cung cấp.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế được thử nghiệm về hoạt tính sinh học.

Theo các phương án đã biết, sự hình thành của phức hợp thể miễn dịch được đánh giá bằng phương pháp như sắc ký loại trừ kích cỡ (sự lọc gel), siêu ly tâm, tán xạ ánh sáng, kính hiển vi điện tử, hoặc phép đo phổ khối (Mol. Immunol. 39:77-84 (2002), Mol. Immunol. 47:357-364 (2009)). Các phương pháp này tạo ra việc sử dụng đặc tính mà phức hợp thể miễn dịch là phân tử lớn hơn của kháng thể được phân lập, hoặc kháng nguyên được phân lập. Trong đó phức hợp lớn

chứa hai hoặc nhiều kháng thể và hai hoặc nhiều kháng nguyên (ví dụ, các phân tử myostatin) được phát hiện với sự có mặt của kháng thể thử nghiệm và kháng nguyên, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể có thể tạo thành phức hợp thể miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể và hai hoặc nhiều phân tử của myostatin. Theo phương án khác, sự hình thành của phức hợp thể miễn dịch được đánh giá bằng phương pháp như, ELISA, FACS, hoặc SPR (thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt; ví dụ, sử dụng BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký)) (Shields et al., J. Biol. Chem. 276(9):6591-6604 (2001); Singh et al., J. Immunol. Methods 50:109-114 (1982); Suzuki et al., J. Immunol. 184(4):1968-1976 (2010); Luo et al., mAbs 1(5):491-504 (2009)). Các phương pháp này tạo ra việc sử dụng đặc tính mà phức hợp thể miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể và hai hoặc nhiều kháng nguyên có thể gắn kết mạnh hơn với thụ thể Fc hoặc thành phần bổ thể hơn kháng thể hoặc kháng nguyên được phân lập có thể. Trong đó việc gắn kết đã tăng cường với thụ thể Fc hoặc thành phần bổ thể được phát hiện với sự có mặt của cả kháng thể thử nghiệm và kháng nguyên so với sự có mặt của kháng thể được phân lập, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể có thể tạo thành phức hợp thể miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể và hai hoặc nhiều phân tử của myostatin. Theo phương án khác, sự hình thành của phức hợp thể miễn dịch được đánh giá bằng việc cung cấp kháng thể thử nghiệm với động vật (ví dụ, chuột) và đo sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Như được mô tả trên đây, kháng thể mà tạo thành phức hợp thể miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể với hai hoặc nhiều kháng nguyên được mong đợi để thúc đẩy sự đào thải các kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Do đó, trong đó sự đào thải được thúc đẩy của myostatin ra khỏi huyết tương được quan sát trong chuột được cung cấp kháng thể thử nghiệm so với trong chuột được cung cấp kháng thể tham khảo, kháng thể thử nghiệm được đồng nhất như một kháng thể có thể tạo thành phức hợp thể miễn dịch chứa hai hoặc nhiều kháng thể và hai hoặc nhiều phân tử của myostatin hiệu quả hơn kháng thể tham khảo.

D. Các tiếp hợp miễn dịch

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến các tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể kháng myostatin ở đây được ghép đôi với một hoặc nhiều tác nhân gây hại các tế bào, như các tác nhân hóa học liệu pháp hoặc các thuốc, các tác nhân ức chế tăng trưởng, các độc tố (ví dụ, các độc tố protein, các độc tố hoạt tính như enzym của vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc gốc động vật, hoặc các phần của chúng), hoặc các chất đồng vị phóng xạ.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến các tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi ở đây được ghép đôi với một hoặc nhiều tác nhân gây hại các tế bào, như các tác nhân hóa học liệu pháp hoặc các thuốc, các tác nhân ức chế tăng trưởng, các độc tố (ví dụ, các độc tố protein, các độc tố hoạt tính như enzym của vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc gốc động vật, hoặc các phần của chúng), hoặc các chất đồng vị phóng xạ.

Theo một phương án, tiếp hợp miễn dịch là tiếp hợp thuốc kháng thể (ADC) trong đó kháng thể được ghép đôi với một hoặc nhiều các thuốc, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở maytansinoit (xem các patent Hoa Kỳ số 5,208,020, 5,416,064 và patent châu Âu như EP 0425235 B1); auristatin như các gốc monometylauristatin thuốc DE và DF (MMAE và MMAF) (xem các patent Hoa Kỳ số 5,635,483 và 5,780,588, và 7,498,298); dolastatin; calicheamicin hoặc dẫn xuất của chúng (xem các patent Hoa Kỳ số 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001, và 5,877,296; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); và Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)); anthracycline như daunomycin hoặc doxorubicin (xem Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); và patent Hoa Kỳ số 6,630,579); methotrexat; vindesin; taxan như docetaxel, paclitaxel, larotaxel, tesetaxel, và ortataxel; trichothexen; và CC1065.

Theo phương án khác, tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể như được mô tả ở đây được ghép đôi với độc tố hoạt hóa như enzym hoặc một phần của chúng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chuỗi A bệnh bạch cầu, các phần hoạt tính không gắn kết của độc tố bệnh bạch cầu, ngoại độc tố chuỗi A (từ *Pseudomonas aeruginosa*), rixin chuỗi A, abrin chuỗi A, modeccin chuỗi A, alpha-sarcin, các protein Aleurites fordii, các protein dianthin, các protein Phytolaca americana (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế momordica charantia, curcin, crotin, chất ức chế sapaonaria officinalis, gelonin, mitogellin, restrictocin, phenomycin, enomycin, và tricothexen.

Theo phương án khác, tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể như được mô tả ở đây được ghép với nguyên tử phóng xạ để tạo thành thể tiếp hợp phóng xạ. Nhiều chất đồng vị phóng xạ là có sẵn đối với việc sản xuất của sự tiếp hợp phóng xạ. Các ví dụ bao gồm At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} và các chất đồng vị phóng xạ của Lu. Khi tiếp hợp phóng xạ được sử dụng để dò, nó có thể bao gồm nguyên tử phóng xạ đối với các nghiên cứu thực chất xạ hình, ví dụ tc99m hoặc I123, hoặc nhãn quay để tạo ảnh cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) (cũng đã biết như tạo ảnh cộng hưởng từ, mri), như iốt-123 thêm nữa, iốt-131, inđi-111, flo-19, cacbon-13, nitơ-15, oxy-17, gadolini, mangan và sắt.

Sự tiếp hợp của một kháng thể và tác nhân gây độc tế bào có thể được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều tác nhân ghép cặp protein hai chức năng như N-suxinimidyl-3-(2-pyridyldithio) propionat (SPDP), suxinimidyl-4-(N-maleimidometyl) cyclohexan-1-cacboxylat (SMCC), iminothiolan (IT), các dẫn xuất hai chức năng của các imidoeste (như dimetyl adipimidat HCl), các este hoạt hóa (như suberat disuxinimidyl), các aldehyt (như glutaraldehyt), các hợp chất bis-azido (như bis (p-azidobenzoyl) hexanediamin), các dẫn xuất bis-diazonium (như bis-(p-diazoniumbenzoyl)-etylendiamin), các diisocyanat (như toluen 2,6-diisocyanat), và các hợp chất flo lặp lại hoạt hóa (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen). Ví dụ, độc tố miễn dịch rixin có thể được điều chế như được mô tả ở Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). axit 1-isothiocyanatobenzyl-3-metyldietylen

triaminepentaaxetic được dán nhãn cacbon-14 (MX-DTPA) là tác nhân tạo chelat được lấy làm ví dụ đối với sự tiếp hợp của nucleotit phóng xạ với kháng thể. Xem WO 1994/11026. Mối liên kết có thể là "liên kết có thể phân tách" thuận lợi để giải phóng thuốc gây độc tế bào trong tế bào. Ví dụ, mối liên kết không bền axit, mối liên kết nhạy peptidaza, mối liên kết không bền ảnh, mối liên kết dimetyl hoặc mối liên kết chứa disulfit (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); patent Hoa Kỳ số 5,208,020) có thể được sử dụng.

Các tiếp hợp miễn dịch hoặc các ADC ở đây dự tính biểu hiện, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự tiếp hợp này được điều chế với các chất phản ứng liên kết chéo bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, và Sulfo-SMPB, và SVSB (suxinimidyl-(4-vinylsulfone)benzoat) có sẵn trên thị trường (ví dụ, từ Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A).

E. Các phương pháp và các chế phẩm để chẩn đoán và phát hiện

Theo các phương án đã biết, các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được đề cập ở đây là hữu ích để dò sự có mặt của myostatin trong mẫu sinh học. Thuật ngữ "phát hiện" theo sáng chế bao gồm việc phát hiện định tính và định lượng. Theo các phương án đã biết, mẫu sinh học bao gồm tế bào hoặc mô, như huyết thanh, toàn bộ huyết, huyết tương, mẫu sinh thiết, mẫu mô, huyền phù tế bào, nước bọt, đờm, dịch miệng, dịch não tủy, nước ối, dịch bệnh cổ trướng, sữa, sữa non, chất bài tiết tuyến vú, bạch huyết, nước tiểu, mồ hôi, dịch tuyến lệ, dịch dạ dày, dịch hoạt dịch, dịch màng bụng, dịch hoặc nước nhầy thủy tinh thể.

Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp chẩn đoán hoặc dò được cung cấp. Theo khía cạnh nữa, phương pháp dò sự có mặt của myostatin tiềm ẩn hoặc propeptit myostatin trong mẫu sinh học được cung cấp. Theo các phương án đã biết, phương pháp bao gồm việc tiếp xúc mẫu sinh học với kháng thể kháng myostatin như được mô tả ở đây trong các điều kiện

cho phép để gắn kết kháng thể kháng myostatin với myostatin, và dò dù có phức hợp được tạo thành giữa kháng thể kháng myostatin và myostatin. Phương pháp này có thể là phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin được sử dụng để chọn các đối tượng thích hợp để điều trị với kháng thể kháng myostatin, ví dụ, trong đó myostatin là chỉ dấu sinh học đối với sự lựa chọn của các bệnh nhân.

Các rối loạn làm ví dụ có thể được chẩn đoán bằng cách sử dụng kháng thể theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chứng loạn dưỡng cơ (MD; bao gồm chứng loạn dưỡng cơ Duchenne), bệnh xơ cột bên teo cơ (ALS), teo cơ, teo cơ quan, hội chứng ống cổ tay, gầy yếu, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), suy giảm khối cơ, hội chứng suy giảm sức khỏe, hội chứng nhẽo cơ, nhẽo cơ do HIV, bệnh tiểu đường typ 2, rối loạn dung nạp glucoza, hội chứng chuyển hóa (bao gồm cả hội chứng X), kháng insulin (bao gồm cả đề kháng do chấn thương, ví dụ, rối loạn hoặc mất cân bằng nitơ), các rối loạn mô mỡ (ví dụ, béo phì, rối loạn mỡ máu, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, v.v..), chứng loãng xương, thiếu xương, viêm xương khớp, và các rối loạn chuyển hóa xương (bao gồm khối lượng xương thấp, suy tuyến sinh dục sớm, ức chế androgen, thiếu vitamin D, cường cận giáp thứ phát, thiếu dinh dưỡng, và chán ăn tâm thần).

Theo các phương án đã biết, các kháng thể kháng myostatin được dán nhãn cũng được đề cập. Các nhãn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhãn hoặc các gốc được phát hiện trực tiếp (như các nhãn huỳnh quang, thuốc nhuộm màu, thuốc tập trung electron, phát quang hóa học, và phóng xạ), cũng như các gốc, như các enzym hoặc các phối tử, được phát hiện gián tiếp, ví dụ, thông qua phản ứng enzym hoặc sự tương tác phân tử. Các nhãn được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất đồng vị phóng xạ ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H, và ^{131}I, các huỳnh quang như các chelat đất hiếm hoặc fluoresxein và các dẫn xuất của nó, rhodamin và các dẫn xuất của nó, dansyl, umbelliferon, các luceriferaza, ví dụ, luciferaza của đom đóm và luciferaza của vi khuẩn (patent Hoa Kỳ số 4,737,456), luciferin, các 2,3-dihydrophthalazindion, horseradish peroxidaza (HRP), kiềm

phosphataza, beta-galactosidaza, glucoamylaza, lysozym, saccharide các oxidaza, ví dụ, glucoza oxidaza, galactoza oxidaza, và glucoza-6-phosphat dehydroaza, các heterocyclic oxidaza như uricaza và xanthin oxidaza, được ghép cặp với enzyme sử dụng hydro peroxit để oxy hóa tiền chất thuốc nhuộm như HRP, lactoperoxidaza, hoặc microperoxidaza, biotin/avidin, các nhãn quay, các nhãn thể thực khuẩn, các gốc tự do phù hợp, và tương tự.

F. Các chế phẩm dược

Các chế phẩm dược của một kháng thể kháng myostatin như được mô tả ở đây được điều chế bằng cách trộn kháng thể này có độ tinh khiết được mong đợi với một hoặc nhiều chất mang dược dụng tùy ý (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), ở dạng chế phẩm đông khô hoặc các dung dịch nước.

Các chế phẩm dược của một polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi như được mô tả ở đây được điều chế bằng cách trộn polypeptit này có độ tinh khiết được mong đợi với một hoặc nhiều chất mang dược dụng tùy ý ở dạng các sự tạo thành công thức được đông khô hoặc các dung dịch nước.

Các chất mang dược dụng nhìn chung không độc đối với người nhận ở các liều và nồng độ được sử dụng, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các chất đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; các chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và methionin; các chất bảo quản (như octadecyldimetylbenzyl amoni clorua; hexamethonium clorua; benzalkonium clorua; benzethonium clorua; phenol, rượu butyl hoặc benzyl; các alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; cyclohexanol; 3-pentanol; và M-cresol); trọng lượng phân tử thấp (nhỏ hơn khoảng 10 gốc) các polypeptit; các protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc các globulin miễn dịch; các polyme hút nước như polyvinylpyrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; các monosaccarit, các disaccarit, và các cacbohydrat khác bao gồm glucoza, mannoza, hoặc các dextrin; các tác nhân chelat hóa như EDTA; các

đường như sucroza, mannitol, trehaloza hoặc sorbitol; các muối tạo thành các ion ngược như natri; các phức hợp kim loại (ví dụ, các phức hợp Zn-protein); và/hoặc các chất có hoạt tính bề mặt không ion như polyetylen glycol (PEG). Các chất mang dược dụng được lấy làm ví dụ ở đây còn bao gồm các tác nhân phân tán thuốc insterstitial như các glycoprotein hyaluronidaza hoạt hóa trung hòa hòa tan (sHASEGP), ví dụ, các glycoprotein hyaluronidaza PH-20 người hòa tan, như rHuPH20 (HYLENEX (nhãn hiệu được đăng ký), Baxter International, Inc.). Các ví dụ cụ thể về sHASEGP và các phương pháp sử dụng, bao gồm rHuPH20, được mô tả ở các công bố đơn patent Hoa Kỳ số 2005/0260186 và 2006/0104968. Theo một khía cạnh, sHASEGP được kết hợp với một hoặc nhiều glycosaminoglycanaza bổ sung như các chondroitinaza.

Việc tạo thành công thức kháng thể được đông khô được lấy làm ví dụ được mô tả ở patent Hoa Kỳ số 6,267,958. Việc tạo thành công thức kháng thể chứa nước bao gồm các phương pháp được mô tả ở patent Hoa Kỳ số 6,171,586 và WO 2006/044908, các chế phẩm này chứa đệm histidin-axetat.

Chế phẩm ở đây cũng có thể chứa nhiều hơn một thành phần hoạt tính khi cần đối với chỉ dẫn cụ thể đang được điều trị, tốt hơn là chúng có các hoạt tính bổ thể mà không tác động ngược nhau. Các thành phần hoạt tính này có mặt thích hợp khi kết hợp với các số lượng mà hiệu quả đối với mục đích dự kiến.

Các thành phần hoạt tính có thể bị kẹt trong các vi nang được điều chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật giọt tụ hoặc bằng sự polyme hóa xen giữa, ví dụ, các vi nang hydroxymetylxenluloza hoặc gelatin và các vi nang poly-(metylmethacylat), tương ứng, trong các hệ phân phối thuốc dạng keo (Ví dụ, các liposom, các albumin vi cầu, các vi nhũ tương, các hạt nano và các nang nano) hoặc trong các nhũ tương thể đại. Các kỹ thuật này được bộc lộ trong Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Các chế phẩm giải phóng kéo dài có thể được điều chế. Các ví dụ phù hợp về chế phẩm giải phóng kéo dài bao gồm các chất nền bán thấm của các polyme

kỵ nước dạng rắn chứa kháng thể, trong đó các thể mẹ ở dạng các hạt định hình, ví dụ, các màng, hoặc các vi nang.

Các chế phẩm được sử dụng để dùng *in vivo* nhìn chung vô trùng. Sự vô trùng có thể dễ dàng được hoàn thành, ví dụ, bằng cách lọc thông qua các màng vô trùng.

G. Các phương pháp điều trị và các chế phẩm

Các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được đề cập theo sáng chế có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị. Tương tự, các polypepptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được đề cập theo sáng chế có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị.

Theo một khía cạnh, kháng thể kháng myostatin dùng như dược phẩm được đề cập. Theo các khía cạnh nữa, kháng thể kháng myostatin dùng trong điều trị bệnh nhẽo cơ được đề cập. Theo các phương án đã biết, kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp điều trị được đề cập. Theo các phương án đã biết, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp điều trị cá thể mắc bệnh nhẽo cơ bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của kháng thể kháng myostatin. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong việc tăng khối lượng của mô cơ. Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp tăng khối lượng của mô cơ ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin để tăng khối lượng mô cơ. Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong việc tăng độ bền của mô cơ. Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp tăng độ bền của mô cơ ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể

kháng myostatin để tăng độ bền của mô cơ. Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong việc giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin dùng để tăng khả năng đào thải myostatin ra khỏi huyết tương. Theo các phương án đã biết, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng myostatin để sử dụng trong phương pháp để tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương trong cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của kháng thể kháng myostatin để tăng sự đào thải của myostatin ra khỏi huyết tương. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH tăng cường sự đào thải của myostatin từ huyết tương, so với kháng thể kháng myostatin thông thường mà không có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, kháng thể kháng myostatin với đặc tính gắn kết phụ thuộc pH giữa gắn kết ở pH 5,8 và pH 7,4 tăng cường sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương, so với kháng thể kháng myostatin thông thường mà không có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến việc sử dụng kháng thể kháng myostatin để sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một phương án, dược phẩm để điều trị bệnh nhẽo cơ. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh nhẽo cơ bao gồm bước cung cấp cho cá thể có bệnh nhẽo cơ một lượng hữu hiệu dược phẩm. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để tăng khối lượng của mô cơ. Theo một phương án khác, dược phẩm để sử dụng trong phương pháp tăng khối lượng của mô cơ ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để tăng khối lượng của mô cơ. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để tăng độ bền của mô cơ. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp tăng độ bền của mô cơ ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để tăng độ bền của mô cơ. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm là để nâng cao sự đào thải của myostatin ra khỏi huyết tương. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm để sử dụng trong phương pháp để tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương trong cá thể bao gồm bước cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu dược phẩm để tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương, so với kháng thể kháng myostatin thông thường mà không có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, kháng thể kháng myostatin biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH khác nhau giữa pH 5,8 và pH 7,4. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhão cơ. Theo một phương án, phương pháp bao gồm cung cấp cho cá thể có bệnh nhão cơ này lượng hữu hiệu của một kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu

hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cung cấp phương pháp để tăng khối lượng của mô cơ ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây để tăng khối lượng của mô cơ. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cung cấp phương pháp để tăng độ bền của mô cơ ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây để tăng độ bền của mô cơ. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cung cấp phương pháp để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp nâng cao sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương trong cá thể. Theo một phương án, phương pháp bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của một kháng thể kháng myostatin được cung cấp ở đây để tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương. Theo một phương án, kháng thể kháng myostatin với các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH tăng cường sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương, so với kháng thể kháng myostatin thông thường mà không có các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, kháng thể kháng myostatin biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH khác nhau giữa pH 5,8 và pH 7,4. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm dược bao gồm các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được cung cấp ở đây, ví dụ, để sử dụng trong

các phương pháp điều trị bất kỳ trên đây. Theo một phương án, chế phẩm dược bao gồm các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được cung cấp ở đây và chất mang dược dụng. Theo phương án khác, chế phẩm dược bao gồm các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được cung cấp ở đây và ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Theo khía cạnh nữa, chế phẩm dược để điều trị bệnh nhẽo cơ. Theo một phương án nữa, chế phẩm dược là để tăng khối lượng của mô cơ. Theo một phương án nữa, chế phẩm dược là để tăng độ bền của mô cơ. Theo một phương án nữa, chế phẩm dược là để giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể. Kháng thể kháng myostatin theo sáng chế có thể biểu hiện các đặc tính gắn kết phụ thuộc pH. Theo một phương án khác nữa, chế phẩm dược là để tăng sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương. Theo một phương án, chế phẩm dược được cung cấp cho cá thể có bệnh nhẽo cơ. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các phương pháp điều chế dược phẩm hoặc chế phẩm dược, bao gồm việc trộn các kháng thể kháng myostatin bất kỳ được cung cấp ở đây với chất mang dược dụng, ví dụ, để sử dụng trong các phương pháp điều trị bất kỳ trên đây. Theo một phương án, các phương pháp điều chế dược phẩm hoặc chế phẩm dược còn bao gồm bổ sung ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung cho dược phẩm hoặc chế phẩm dược.

Theo các phương án cụ thể, bệnh nhẽo cơ được chọn từ nhóm bao gồm chứng loạn dưỡng cơ bắp (MD; bao gồm cả chứng loạn dưỡng cơ bắp Duchenne), xơ cột bên nhẽo cơ (ALS), teo cơ, teo bộ phận, hội chứng ống cổ tay, gầy yếu, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), suy giảm khối cơ, hội chứng suy giảm sức khỏe, các hội chứng nhẽo cơ, nhẽo cơ do HIV, bệnh tiểu đường typ 2, rối loạn dung nạp glucoza, hội chứng chuyển hóa (bao gồm cả hội chứng X), kháng insulin (bao gồm cả đề kháng do chấn thương, ví dụ, rối loạn hoặc mất cân bằng nitơ), các rối loạn cơ mỡ (ví dụ, béo phì, rối loạn mỡ máu, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, v.v..), chứng loãng xương, thiếu xương, viêm xương khớp, và các rối loạn chuyển hóa xương (bao gồm khối lượng xương thấp, suy tuyến sinh dục sớm, ức chế

androgen, thiếu hụt vitamin D, cường cận giáp thứ phát, thiếu dinh dưỡng, và chán ăn tâm thần).

Polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị. Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm các polypeptit bất kỳ bao gồm các vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây, ví dụ, để sử dụng trong các phương pháp điều trị. Theo một phương án, chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm các polypeptit bất kỳ bao gồm các vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây và chất mang dược dụng. Theo phương án khác, chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm các vùng Fc biến đổi bất kỳ được cung cấp ở đây và ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Theo một khía cạnh, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi dùng như dược phẩm được cung cấp. Theo các khía cạnh khác nữa, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi dùng trong điều trị rối loạn được cung cấp. Theo các phương án đã biết, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị được cung cấp. Theo các phương án đã biết, sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị cá thể có rối loạn bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một phương án, dược phẩm là để điều trị rối loạn. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là kháng thể. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm để sử dụng trong phương pháp điều trị rối loạn bao gồm việc cung cấp cho cá thể có rối loạn cần được điều trị một lượng hữu hiệu dược phẩm. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm cung cấp cho cá thể lượng

hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp đối điều trị rối loạn. Theo một phương án, phương pháp bao gồm cung cấp cho cá thể có rối loạn này một lượng hữu hiệu một polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi. Theo một phương án, phương pháp còn bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây, dùng trong phương pháp điều trị theo các phương pháp điều trị bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một phương án, chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây và chất mang dược dụng. Theo phương án khác, chế phẩm dược bao gồm polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây và ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Theo khía cạnh nữa, chế phẩm dược để điều trị rối loạn. Theo một phương án, chế phẩm dược được cung cấp cho cá thể có rối loạn. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong việc ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm trong một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh,

polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm để ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm trong một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu dược phẩm để ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm trong một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi. Theo một phương án khác, chế phẩm dược là để ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm.

Các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai, và/hoặc các tế bào ưa kiềm. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng sự hoạt hóa bị ức chế này là kết quả của sự liên kết có chọn lọc của các vùng Fc biến đổi đã cung cấp với Fc gama RIIb mà không kích hoạt hoạt hóa Fc gama R. Như được sử dụng ở đây, "sự hoạt hóa tế bào B" bao gồm sự tăng sinh, sản xuất IgE, sản xuất IgM, và sản xuất IgA. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng sự hoạt hóa bị ức chế của các tế bào B là kết quả của khả năng các vùng Fc biến đổi được cung cấp trên các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế để liên kết chéo Fc gama RIIb với IgE để ngăn ngừa sản xuất IgE của các tế bào B, với IgM để ngăn ngừa sản xuất IgM của các tế bào B, và với IgA để ngăn ngừa sản xuất

IgA. Khác với những điều trên, các hiệu quả ức chế tương tự như hiệu quả được đề cập ở trên được thể hiện bằng cách liên kết chéo trực tiếp hoặc gián tiếp Fc gama RIIb với các phân tử được biểu hiện trên các tế bào B và bao gồm miền ITAM bên trong tế bào hoặc tương tác với miền ITAM như BCR, CD19, và CD79b. Như được sử dụng ở đây, "sự hoạt hóa các tế bào lớn" bao gồm tăng sinh, hoạt hóa bởi IgE, và quá trình mất hạt nhỏ. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng sự hoạt hóa bị ức chế của các tế bào lớn là kết quả của khả năng các vùng Fc biến đổi được cung cấp trên các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế để liên kết chéo trực tiếp hoặc gián tiếp Fc gama RIIb với các phân tử thụ thể IgE được biểu hiện trên các tế bào lớn và bao gồm miền ITAM hoặc tương tác với miền ITAM như Fc epxilon RI, DAP12, và CD200R3. Như được sử dụng ở đây, "sự hoạt hóa các tế bào ưa kiềm" bao gồm tăng sinh và quá trình mất hạt nhỏ các tế bào ưa kiềm. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng sự hoạt hóa bị ức chế của các tế bào ưa kiềm là kết quả của khả năng các vùng Fc biến đổi được cung cấp trên các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế để liên kết chéo trực tiếp hoặc gián tiếp Fc gama RIIb với các phân tử trên màng tế bào, bao gồm miền ITAM bên trong tế bào hoặc tương tác với miền ITAM. Như được sử dụng ở đây, "sự hoạt hóa các tế bào đuôi gai" bao gồm tăng sinh và quá trình mất hạt nhỏ của các tế bào đuôi gai. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng sự hoạt hóa bị ức chế của các tế bào đuôi gai là kết quả của khả năng các vùng Fc biến đổi được cung cấp trên các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế để liên kết chéo trực tiếp hoặc gián tiếp Fc gama RIIb với các phân tử trên màng tế bào, bao gồm miền ITAM bên trong tế bào hoặc tương tác với miền ITAM.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit chứa vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh viêm miễn dịch. Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh viêm miễn dịch ở một cá thể bao gồm việc

cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị bệnh viêm miễn dịch. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để điều trị bệnh viêm miễn dịch. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh viêm miễn dịch ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để điều trị các bệnh viêm miễn dịch. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh viêm miễn dịch ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit chứa vùng Fc biến đổi để điều trị các bệnh viêm miễn dịch. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một phương án khác, chế phẩm dược dùng để điều trị bệnh viêm miễn dịch.

Như được mô tả ở trên, vì các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự hoạt hóa các tế bào B, các tế bào lớn, các tế bào đuôi gai và/hoặc các tế bào ưa kiềm, nên sự cung cấp các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế do có thể xử lý hoặc ngăn ngừa các bệnh viêm miễn dịch.

Theo một số phương án cụ thể, bệnh viêm miễn dịch được điều trị được chọn từ nhóm bao gồm viêm khớp dạng thấp, viêm gan tự miễn, viêm tuyến giáp tự miễn, bệnh phồng rộp tự miễn, bệnh vỏ thượng thận tự miễn, thiếu máu tán huyết tự miễn, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn, thiếu máu bạch cầu, viêm dạ dày teo tự miễn, giảm bạch cầu trung tính tự miễn, viêm tinh hoàn tự miễn, viêm não tủy tự miễn, bệnh thụ thể tự miễn, vô sinh tự miễn, viêm gan hoạt động mãn tính, viêm cầu thận, xơ phổi mô kẽ, đa xơ cứng, bệnh Paget, loãng xương, đa u tủy,

viêm màng bồ đào, viêm đốt sống cấp và mãn tính, viêm khớp gút, bệnh viêm ruột, hội chứng suy hô hấp ở người lớn (ARDS), bệnh vẩy nến, bệnh Crohn, bệnh Basedow, bệnh tiểu đường vị thành niên, bệnh Addison, bệnh nhược cơ, viêm màng bồ đào do thấu kính, lupus ban đỏ hệ thống, viêm mũi dị ứng, viêm da dị ứng, viêm loét đại tràng, quá mẫn cảm thuốc, thoái hóa cơ, hội chứng suy giảm sức khỏe, xơ cứng bì toàn thân, xơ cứng bì cục bộ, hội chứng Sjogren, bệnh Behchet, hội chứng Reiter, bệnh tiểu đường typ I và typ II, rối loạn tiêu xương, phản ứng ghép so với vật chủ, chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu, xơ vữa động mạch, chấn thương não, sốt rét thể não, nhiễm trùng huyết, sốc nhiễm trùng, hội chứng sốc nhiễm độc, sốt, đau nhức cơ do thuốc nhuộm (malgias due to staining), thiếu máu bất sản, thiếu máu tán huyết, giảm tiểu cầu tự phát, hội chứng Goodpasture, hội chứng Guillain-Barre, viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh pemfigut, bệnh thận IgA, bệnh phấn hoa, hội chứng kháng thể kháng phospholipit, viêm đa cơ, u hạt Wegener, viêm nút động mạch, bệnh mô liên kết hỗn hợp, đau cơ xơ hóa, hen suyễn, viêm da dị ứng, viêm dạ dày teo mãn tính, xơ gan mật nguyên phát, viêm đường mật xơ cứng nguyên phát, viêm tụy tự miễn, hội chứng viêm động mạch chủ, viêm cầu thận tiến triển nhanh, thiếu máu hồng cầu khổng lồ, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, suy giáp nguyên phát, bệnh Addison vô căn, bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin, bệnh lupus ban đỏ mãn tính, bọng nước dạng pemphigus, herpes thai nghén, bệnh da nổi bóng nước IgA tuyến tính, biểu bì bóng nước thụ nhiễm, rụng tóc từng mảng, bệnh bạch biến thể thông thường, bạch biến quanh nơvi của Sutton, bệnh Harada, bệnh thần kinh thị giác tự miễn, chứng vô tinh trùng vô căn, xảy thai thường xuyên, hạ đường huyết, nổi mề đay mãn tính, viêm cột sống dính khớp, viêm khớp vẩy nến, viêm khớp dính ruột, viêm khớp phản ứng, bệnh thoái hóa đốt sống, viêm chèn dây chằng, hội chứng ruột kích thích, hội chứng mệt mỏi mãn tính, viêm da cơ, bệnh viêm cơ thể vùi, hội chứng Schmidt, bệnh Graves, thiếu máu ác tính, viêm gan dạng lupoid, sa sút trí tuệ tiền lão suy, bệnh Alzheimer, bệnh hủy miêlin, xơ cột bên teo cơ, suy tuyến cận giáp, hội chứng Dressler, hội chứng Eaton-Lambert, viêm đa dạng

herpes, rụng tóc, xơ cứng hệ thống tiến triển, hội chứng CREST (chứng vôi hóa, hiện tượng Raynaud, mất nhu động thực quản, chứng xơ cứng ngón tay, và chứng giãn mạch máu), bệnh u hạt, sốt thấp khớp, ban đỏ đa dạng, hội chứng Cushing, phản ứng truyền máu, bệnh Hansen, viêm động mạch Takayasu, đau đa cơ do thấp khớp, viêm động mạch thái dương, viêm khớp tế bào khổng lồ, viêm da cơ địa, u hạt lympho, bệnh Kawasaki, viêm nội tâm mạc, xơ hóa cơ tim, viêm nội nhãn, tăng hồng cầu bào thai, viêm cân tăng bạch cầu ái toan, hội chứng Felty, ban xuất huyết Henoch-Schonlein, thải ghép, bệnh quai bị, bệnh cơ tim, viêm khớp có mủ, sốt Địa Trung Hải gia đình, hội chứng Muckle-Wells, và hội chứng siêu IgD.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn). Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn) ở cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn). Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn) ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu dược phẩm để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn) ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một phương án khác, chế phẩm dược dùng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn).

Các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tự miễn có thể do hoặc liên quan đến việc sản xuất các kháng thể chống lại các tự kháng nguyên (kháng thể tự miễn) bằng cách ức chế sản xuất kháng thể tự miễn đó. Việc sử dụng phân tử hợp nhất của một phần Fc kháng thể với AchR (một các tự kháng nguyên của bệnh nhược cơ) đã được báo cáo để ngăn chặn sự tăng sinh của các tế bào B biểu hiện BCR nhận biết AchR, và gây ra quá trình chết tế bào theo chương trình (J. Neuroimmunol 227: 35-43 (2010)). Việc sử dụng protein dung hợp được hình thành giữa vùng Fc biến đổi theo sáng chế và kháng nguyên được công nhận bởi một tự kháng thể cho phép liên kết chéo Fc gama RIIb với BCR đối với các tự kháng nguyên đó trên tế bào B, gây ra sự ức chế tăng sinh của các tế bào B và/hoặc gây ra sự cảm ứng quá trình chết tế bào theo chương trình của các tế bào B.

Theo một số phương án cụ thể, bệnh tự miễn có thể được điều trị hoặc được ngăn ngừa được chọn từ nhóm bao gồm hội chứng Guillain-Barre, bệnh nhược cơ, viêm dạ dày teo mãn tính, viêm gan tự miễn, xơ gan mật nguyên phát, viêm đường mật xơ cứng nguyên phát, viêm tụy tự miễn, hội chứng động mạch chủ cấp, hội chứng Goodpasture, viêm cầu thận tiến triển nhanh, thiếu máu hồng cầu khổng lồ, thiếu máu tan huyết tự miễn, giảm bạch cầu trung tính tự miễn, ban xuất huyết

giảm tiểu cầu tự phát, bệnh Basedow, viêm tuyến giáp Hashimoto, suy giáp nguyên phát, bệnh Addison tự phát, đái tháo đường phụ thuộc insulin, bệnh lupus đỏ mãn tính dạng đĩa, bệnh xơ cứng bì khu trú, bệnh pemphigus, bọng nước dạng pemphigus, herpes thai nghén, bệnh da nổi bóng nước IgA tuyến tính, ly thượng bì bọng nước mắc phải, chứng rụng tóc từng mảng, bệnh bạch biến thể thông thường, bạch biến quanh novi của Sutton, bệnh Harada, bệnh thần kinh thị giác tự miễn, bệnh vô tinh trùng tự phát, xảy thai thường xuyên, bệnh tiểu đường typ II, hạ đường huyết, và mề đay mãn tính.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học. Theo một số phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học ở cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị bệnh. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để điều trị bệnh. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit chứa vùng Fc biến đổi để điều trị bệnh. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được đề xuất ở đây. Theo một phương án khác, chế phẩm dược dùng để điều trị bệnh liên quan đến sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học.

Đối với các bệnh có sự thiết hụt protein thiết yếu về mặt sinh học, các phương pháp điều trị cung cấp và bổ sung protein như một dược phẩm được sử dụng. Tuy nhiên, do bệnh nhân thiếu protein ngay từ đầu nên protein được bổ sung từ bên ngoài được nhận biết là tạp chất và sinh ra các kháng thể chống lại protein đó. Kết quả là, protein trở nên dễ dàng bị loại bỏ, và tác dụng như một loại dược phẩm bị giảm đi. Việc sử dụng protein dung hợp bao gồm protein như vậy và vùng Fc biến đổi theo sáng chế cho phép liên kết chéo giữa Fc gama RIIb và BCR nhận biết protein trên các tế bào B, điều này gây ra sự ức chế sản xuất kháng thể chống lại protein.

Theo các phương án cụ thể, protein được bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm nhân tố VIII, nhân tố IX, TPO, EPO, alpha-iduronidaza, iduronat sulfataza, heparan N-sulfataza typ A, alpha-N-axetyl glucosaminidaza typ B, axetyl CoA typ C: alpha-glucosaminidaza axetyltransferaza, N-axetyl glucosamin 6-sulfataza typ D, galactoza 6-sulfataza, N-axetyl galactosamin 4-sulfataza, beta-glucuronidaza, alpha-galactosidaza, alpha-galactosidaza có tính axit, và glucocerebrosidaza. Những protein này có thể được bổ sung cho các bệnh như bệnh ưa chảy máu, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, thiếu máu thận, và bệnh lysosome (bệnh mucopolysaccharidosis, bệnh Fabry, bệnh Pompe, và bệnh Gaucher), mà không bị giới hạn ở đó.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong điều trị bệnh nhiễm virut. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh nhiễm virut ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị bệnh nhiễm virut. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để điều trị bệnh nhiễm virut. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh nhiễm virut ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để điều trị bệnh nhiễm virut. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm virut ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để điều trị bệnh nhiễm virut. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một phương án khác, chế phẩm dược được dùng để điều trị bệnh nhiễm virut.

Các kháng thể kháng virut bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể ngăn chặn sự tăng cường phụ thuộc vào kháng thể được quan sát bằng các kháng thể kháng virut thông thường. Sự tăng cường phụ thuộc vào kháng thể là hiện tượng virut được gắn kết với kháng thể bị thực bào thông qua việc hoạt hóa các Fc gama R để tăng cường khả năng lây nhiễm virut sang tế bào. Sự gắn kết của các kháng thể kháng virut sốt xuất huyết với Fc gama RIIb đã được báo cáo là đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn sự tăng cường phụ thuộc vào kháng thể (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:12479-12484, (2011)). Liên kết chéo các phân tử Fc gama RIIb bằng một phức hợp miễn dịch của các kháng thể kháng virut sốt xuất huyết và virut sốt xuất huyết, ức chế quá trình thực bào qua trung gian Fc gama R, dẫn đến việc ức chế sự tăng cường phụ thuộc vào kháng thể. Các ví dụ về các loại virut này bao gồm virut sốt xuất huyết (DENV1, DENV2, DENV3, và DENV4) và HIV, nhưng không chỉ giới hạn ở các loại virut đó.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một protein dung hợp Fc. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, chế phẩm dược là để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng xơ cứng động mạch.

Các kháng thể chống lại LDL bị oxy hóa, tức là nguyên nhân gây xơ cứng động mạch, bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể ngăn chặn sự gắn kết phụ thuộc Fc gama RIIa của các tế bào viêm. Nó đã được báo cáo rằng trong khi các kháng thể LDL chống oxy hóa ức chế sự tương tác giữa LDL bị oxy hóa và CD36, các kháng thể LDL chống oxy hóa gắn kết với các tế bào nội mô, và các bạch cầu đơn nhân nhận ra phần Fc của chúng theo cách phụ thuộc Fc gama RIIa hoặc phụ thuộc Fc gama RI (Immunol. Lett. 108:52-61, (2007)). Sử dụng các kháng thể bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể ức chế sự gắn kết phụ thuộc Fc gama RIIa và ngăn chặn sự kết dính của bạch cầu đơn nhân bằng các tín hiệu ức chế trung gian Fc gama RIIb.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, dược phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư. Theo một phương án khác, dược phẩm được sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể đó một lượng hữu hiệu dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư ở một cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một

kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm dược chứa polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một số khía cạnh, polypeptit là một kháng thể. Theo một số khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác, chế phẩm dược là để ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư.

Như đã mô tả ở trên, người ta biết rằng việc tăng cường gắn kết Fc gama RIIb làm tăng hoạt tính chủ vận của kháng thể chủ vận, và tăng cường tác dụng chống khối u của kháng thể. Do đó, các kháng thể chủ vận chứa vùng Fc biến đổi theo sáng chế rất hữu ích để điều trị hoặc ngăn ngừa ung thư. Cụ thể, vùng Fc biến đổi theo sáng chế tăng cường hoạt tính chủ vận của các kháng thể chống lại, ví dụ, các thụ thể thuộc họ thụ thể TNF như, CD120a, CD120b, thụ thể beta Lymphotoxin, CD134, CD40, FAS, TNFRSF6B, CD27, CD30, CD137, TNFRSF10A, TNFRSF10B, TNFRSF10C, TNFRSF10D, RANK, Osteoprotegerin, TNFRSF12A, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF14, nhân tố sinh trưởng dây thần kinh, TNFRSF17, TNFRSF18, TNFRSF19, TNFRSF21, TNFRSF25, và thụ thể Ectodysplasin A2, và có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa ung thư. Hơn nữa, hoạt tính chủ vận cũng được tăng cường đối với các kháng thể chống lại các phân tử khác, các kháng thể này thể hiện hoạt tính chủ vận thông qua tương tác với Fc gama RIIb. Ngoài ra, bằng cách kết hợp vùng Fc biến đổi theo sáng chế vào kháng thể chống lại thụ thể tyrosin kinaza (RTK) như Kit, ngăn chặn sự tăng sinh tế bào khi liên kết chéo với Fc gama RIIb, tác dụng ức chế của kháng thể chống lại sự tăng sinh tế bào có thể được nâng cao.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thành viên được chọn từ: ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, ung thư biểu mô tuyến phổi, và ung thư biểu mô tế bào hình vảy của phổi), ung thư ruột lớn, ung thư trực tràng, ung thư ruột kết, ung thư vú, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư tụy, ung

thư thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư buồng trứng, ung thư tuyến giáp, ung thư đường mật, ung thư phúc mạc, u trung biểu mô, ung thư biểu mô tế bào hình vảy, ung thư cổ tử cung, ung thư nội mạc tử cung, ung thư bàng quang, ung thư thực quản, ung thư đầu và cổ, ung thư vòm họng, u tuyến nước bọt, u tuyến ức, ung thư da, u tế bào đáy, u ác tính, ung thư hậu môn, ung thư dương vật, ung thư tinh hoàn, u Wilms, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (bao gồm cả bệnh bạch cầu cấp dòng tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào tủy cấp tính, bệnh bạch cầu nguyên bào cấp tính, bệnh bạch cầu nguyên bào tủy cấp tính, và bệnh bạch cầu đơn nhân cấp tính), bệnh bạch cầu nguyên bào tủy mãn tính, bệnh bạch cầu tăng lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu bạch huyết mãn tính, u lympho Hodgkin, u lympho không Hodgkin (u lympho Burkitt, bệnh bạch cầu lympho mãn tính, u sùi dạng nấm, u lympho tế bào lớp phủ, u lympho nang, u lympho tế bào lớn lan tỏa, u lympho vùng cận biên, u tương bào leukemia sao lông, u lympho tế bào T ngoại vi, và bệnh bạch cầu/ung thư hạch tế bào T trưởng thành), bệnh mô bào Langerhans, đa u tủy, hội chứng loạn sản tủy, khối u não (bao gồm u thần kinh đệm, u tế bào hình sao, u nguyên bào thần kinh đệm, u màng não, và u màng não thất), u nguyên bào thần kinh, u nguyên bào võng mạc, u xương ác tính, sarcoma Kaposi, sarcoma Ewing, ung thư trung mô mạch máu, và u mạch máu.

Các kháng thể mà đã từng được biến đổi để có hoạt tính gắn kết được tăng cường với các Fc gama R bao gồm Fc gama RIIb bởi sự biến đổi của ít nhất một gốc axit amin có thể thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương, như được mô tả hoặc được đề xuất trong, ví dụ, WO 2013/047752, WO 2013/125667, WO 2014/030728, hoặc WO 2014/163101.

Không có sự tồn tại được gắn kết bởi lý thuyết cụ thể, kháng thể có hoạt tính gắn kết Fc gama R đã tăng cường dưới điều kiện pH trung tính được bắt giữ nhanh trong các tế bào cùng nhau với kháng nguyên của nó được tạo phức hợp với kháng thể, và kết quả là, sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương có thể được đẩy mạnh khi kháng thể được cung cấp *in vivo*.

Các kháng thể mà đã từng được biến đổi để có pI đã tăng cường bởi sự biến đổi của ít nhất một gốc axit amin có thể được lộ ra trên bề mặt kháng thể có thể được hợp nhất nhanh hơn trong các tế bào hoặc có thể thúc đẩy sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương, như được mô tả hoặc được đề xuất trong, ví dụ, WO 2007/114319, WO 2009/041643, WO 2014/145159, hoặc WO 2012/016227.

Không bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể, được tin rằng pH của các dịch sinh học (ví dụ, huyết tương) là nằm trong khoảng pH trung tính. Trong các dịch sinh học, mạng điện tích dương của kháng thể đã tăng cường pI được tăng cường do pI đã tăng cường, và kết quả là kháng thể được gắn kèm mạnh hơn bởi sự tương tác cu long hóa lý với bề mặt tế bào nội mô mà có mạng điện tích âm so với kháng thể không có pI đã tăng cường. Có nghĩa là, nhờ sự gắn kết không đặc trưng này, sự hấp thu trong các tế bào của kháng thể được phức hợp với kháng nguyên của nó được tăng cường, dẫn đến sự tăng cường đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Hiện tượng này được mong đợi để xảy ra bình thường *in vivo*, không quan tâm đến kiểu tế bào, kiểu mô, kiểu cơ quan, v.v..

Ở đây, sự tăng cường đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương có nghĩa là, ví dụ, tốc độ đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương được tăng cường so với khi polypeptit bao gồm vùng Fc tương ứng mà được biến đổi như vậy được sử dụng. Sự tăng cường đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương có thể được đánh giá, ví dụ, bằng cách đo nồng độ của kháng nguyên trong huyết tương. Các phương pháp khác nhau để đo nồng độ kháng nguyên trong huyết tương là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi dùng để thúc đẩy sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Theo các phương án đã biết, sáng chế đề cập đến polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sử dụng trong phương pháp thúc đẩy sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương trong cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để thúc đẩy sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết

tương. Theo các phương án này, thích hợp là polypeptit còn bao gồm miền gắn kết kháng nguyên. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên tốt hơn là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến việc sử dụng polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để sản xuất hoặc điều chế dược phẩm. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là kháng thể. Theo một vài khía cạnh, polypeptit là protein dung hợp Fc. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm để thúc đẩy sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Theo một phương án khác nữa, dược phẩm để sử dụng trong phương pháp thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương trong cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu dược phẩm để thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Theo các phương án này, thích hợp là polypeptit còn bao gồm miền gắn kết kháng nguyên. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là người.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương trong cá thể. Theo một phương án, phương pháp bao gồm cung cấp cho cá thể lượng hữu hiệu của một polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi để thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Theo các phương án này, thích hợp là polypeptit còn bao gồm miền gắn kết kháng nguyên. Theo một phương án, "cá thể" là người.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm dược bao gồm các polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây. Theo một phương án khác nữa, chế phẩm dược để thúc đẩy đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương. Theo phương án đó, thích hợp là polypeptit còn bao gồm miền gắn kết kháng nguyên.

Theo một phương án, khi so với trước khi biến đổi axit amin, kháng thể có vùng Fc biến đổi theo sáng chế tăng cường sự đào thải kháng nguyên ra khỏi huyết tương, ví dụ, bởi ít nhất 1,1 lần, 1,25 lần, 1,5 lần, 1,75 lần, 2,0 lần, 2,25 lần, 2,5 lần, 2,75 lần, 3,0 lần, 3,25 lần, 3,5 lần, 3,75 lần, 4,0 lần, 4,25 lần, 4,5 lần, 4,75 lần,

5,0 lần, 5,5 lần, 6,0 lần, 6,5 lần, 7,0 lần, 7,5 lần, 8,0 lần, 8,5 lần, 9,0 lần, 9,5 lần, hoặc 10,0 lần hoặc cao hơn, khi kháng thể được cung cấp *in vivo*.

Theo khía cạnh nữa, sáng chế đề cập đến các phương pháp điều chế dược phẩm hoặc chế phẩm dược, bao gồm việc trộn các polypeptit bất kỳ bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây với chất mang dược dụng, ví dụ, dùng trong các phương pháp điều trị bất kỳ nêu trên. Theo một phương án, các phương pháp điều chế dược phẩm hoặc chế phẩm dược còn bao gồm việc bổ sung ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung cho dược phẩm hoặc chế phẩm dược.

Các kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp với các tác nhân khác trong khi điều trị. Ví dụ, kháng thể theo sáng chế có thể là được đồng cung cấp với ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Tương tự, các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp với các tác nhân khác trong khi điều trị. Ví dụ, polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể là được đồng cung cấp với ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung.

Các điều trị kết hợp này được lưu ý trên đây bao gồm sự cung cấp được kết hợp (trong đó hai hoặc nhiều tác nhân điều trị được cung cấp cùng chế phẩm hoặc riêng lẻ), và sự cung cấp riêng lẻ, trong trường hợp đó, sự cung cấp kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể là trước, đồng thời, và/hoặc sau khi cung cấp tác nhân điều trị bổ sung hoặc các tác nhân. Theo một phương án, sự cung cấp kháng thể kháng myostatin và sự cung cấp tác nhân điều trị bổ sung xảy ra trong khoảng một tháng, hoặc trong khoảng một, hai hoặc ba tuần, hoặc trong khoảng một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu ngày, tương ứng.

Theo phương án khác, sự cung cấp polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi và sự cung cấp tác nhân điều trị bổ sung xảy ra trong khoảng một tháng, hoặc trong khoảng một, hai hoặc ba tuần, hoặc trong khoảng một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu ngày, tương ứng.

Kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế (và tùy ý tác nhân điều trị bổ sung bất kỳ) có thể được cung cấp bằng cách phù hợp bất kỳ có nghĩa là, bao gồm sự cung cấp trong tĩnh mạch, trong phổi, và trong mũi, và, nếu được có thể dùng để điều trị cục bộ, trực tiếp lên vị trí thương tổn. Tiêm truyền bao gồm trong cơ, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong màng bụng, hoặc dưới da. Liều dùng có thể theo đường phù hợp bất kỳ, ví dụ, bằng cách tiêm, như tiêm trong tĩnh mạch hoặc tiêm dưới da, tùy vào bộ phận mà việc cung cấp này là nhanh hoặc kéo dài. Các lịch trình cấp liều khác nhau bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc cung cấp một hoặc nhiều liều với các thời điểm khác nhau, sự cung cấp viên nén, và truyền mạch cũng được dự tính ở đây.

Các kháng thể hoặc các polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế có thể được tạo thành công thức, liều dùng, và được cung cấp theo kiểu thích hợp với thực hành thuốc tốt. Các yếu tố để xem xét về nội dung này bao gồm rối loạn cụ thể đang được điều trị, động vật có vú cụ thể đang được điều trị, trạng thái lâm sàng của từng bệnh nhân, nguyên nhân gây rối loạn, vị trí phân phối tác nhân, phương pháp cung cấp, liệu trình cung cấp, và các yếu tố khác đã biết đối với người điều trị. Kháng thể không cần là, nhưng tùy ý được tạo thành công thức với một hoặc nhiều tác nhân hiện được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị rối loạn được đề cập. Lượng hữu hiệu của các tác nhân khác này tùy thuộc vào số lượng của kháng thể có mặt trong chế phẩm, kiểu rối loạn hoặc điều trị, và các yếu tố khác đã thảo luận trên đây. Nhìn chung đã được sử dụng theo các liều giống nhau với đường dùng giống nhau như được mô tả ở đây, hoặc khoảng từ 1 đến 99% của các liều được mô tả ở đây, hoặc theo liều bất kỳ và theo đường bất kỳ mà được xác định theo kinh nghiệm/về lâm sàng phù hợp.

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, liều thích hợp của một kháng thể theo sáng chế (khi được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị bổ sung khác) sẽ tùy thuộc vào kiểu bệnh cần được điều trị, kiểu kháng thể, kiểu polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi, sự nghiêm trọng và nguyên nhân gây ra bệnh, dù có kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi, được cung cấp

cho các mục đích ngăn ngừa hoặc điều trị, điều trị ưu tiên, lịch sử lâm sàng của bệnh nhân và sự đáp ứng với kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi, và quyết định của bác sỹ điều trị. Kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi theo sáng chế được cung cấp phù hợp cho bệnh nhân ở một khoảng thời gian hoặc qua chuỗi điều trị. Phụ thuộc vào kiểu và sự nghiêm trọng của bệnh, khoảng 1 micro g/kg đến 15 mg/kg (ví dụ, 0,1mg/kg-10mg/kg) kháng thể có thể sử dụng như liều khởi đầu cho bệnh nhân, dù có, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần dùng riêng lẻ, hoặc bằng cách truyền liên tục. Một liều hàng ngày điển hình có thể nằm trong khoảng từ khoảng 1 micro g/kg đến 100 mg/kg hoặc nhiều hơn, phụ thuộc vào các yếu tố nêu trên đây. Đối với các sự cung cấp lặp lại sau vài ngày hoặc lâu hơn, sẽ phụ thuộc vào trạng thái, sự điều trị nhìn chung sẽ được duy trì cho đến khi đạt được sự ức chế các triệu chứng bệnh như mong đợi. Một liều dùng được lấy làm ví dụ của kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 0,05 mg/kg đến khoảng 10 mg/kg. Do đó, một hoặc nhiều liều trong khoảng 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg hoặc 10 mg/kg (hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng) có thể được cung cấp cho bệnh nhân. Các liều này có thể được cung cấp không liên tục, ví dụ, hằng tuần hoặc hằng ba tuần (ví dụ, để bệnh nhân nhận từ khoảng hai đến khoảng hai mươi, hoặc ví dụ, khoảng sáu liều kháng thể hoặc polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi). Liều nạp cao hơn ban đầu, được tiếp theo bằng một hoặc nhiều liều thấp hơn có thể được cung cấp. Sự phát triển về điều trị này dễ dàng được giám sát bằng các kỹ thuật và các thử nghiệm thông thường.

Cần hiểu rằng bất kỳ trong số các chế phẩm hoặc các phương pháp điều trị trên đây có thể được thực hiện sử dụng tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế thay thế hoặc bổ sung cho kháng thể kháng myostatin.

Cũng được hiểu rằng bất kỳ trong số các chế phẩm hoặc các phương pháp điều trị trên đây có thể được thực hiện sử dụng tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế thay thế hoặc bổ sung cho polypeptit bao gồm vùng Fc biến đổi được cung cấp ở đây.

H. Các vật phẩm sản xuất

Theo khía cạnh khác theo sáng chế, vật phẩm sản xuất chứa các nguyên liệu hữu ích đối với sự điều trị, sự ngăn ngừa và/hoặc sự chẩn đoán các rối loạn được mô tả trên đây được đề xuất. Vật phẩm sản xuất bao gồm vật chứa và nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng hoặc liên quan với vật chứa. Các vật chứa phù hợp bao gồm, ví dụ, các chai, các lọ nhỏ, các ống tiêm, các túi dung dịch IV, v.v.. Các vật chứa có thể được tạo thành từ các vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo. Vật chứa chứa chế phẩm trong đó bởi chính vật phẩm hoặc được kết hợp với chế phẩm khác hiệu quả để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán tình trạng và có thể có lỗ vào vô trùng (ví dụ vật chứa có thể là túi dung dịch trong tĩnh mạch hoặc lọ nhỏ có khả năng xuyên qua nút bằng kim tiêm dưới da). Ít nhất một tác nhân hoạt hóa trong chế phẩm là kháng thể theo sáng chế. Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng biểu thị rằng chế phẩm được sử dụng để điều trị tình trạng lựa chọn. Hơn nữa, vật phẩm sản xuất có thể bao gồm (a) vật chứa thứ nhất với chế phẩm được chứa tở đây, trong đó chế phẩm bao gồm kháng thể theo sáng chế; và (b) vật chứa thứ hai với chế phẩm được chứa ở đây, trong đó chế phẩm bao gồm tác nhân gây độc tế bào hoặc tác nhân điều trị khác nữa. Vật phẩm sản xuất theo phương án này theo sáng chế còn có thể bao gồm tờ hướng dẫn sử dụng chỉ báo rằng các chế phẩm có thể được sử dụng để xử lý tình trạng cụ thể. Ngoài ra, hoặc bổ sung thêm, vật phẩm sản xuất có thể còn bao gồm vật chứa thứ hai (hoặc thứ ba) bao gồm đệm dược dụng, như nước kìm hãm vi khuẩn để tiêm (BWFI), nước muối đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó còn có thể bao gồm các nguyên liệu khác mong muốn từ thị trường và quan điểm của người sử dụng, bao gồm các đệm, các chất pha loãng, kim tiêm và các ống tiêm khác.

Cần hiểu rằng các vật phẩm sản xuất bất kỳ nêu trên có thể bao gồm thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế thay thế cho hoặc bổ sung cho kháng thể kháng myostatin.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây mô tả các ví dụ về các phương pháp và các chế phẩm theo sáng chế. Cần hiểu rằng các phương án khác có thể được thực hiện, dựa vào phần mô tả chung được đề cập ở trên.

Ví dụ 1

Biểu hiện và sự tinh chế của dạng myostatin tiềm ẩn và trưởng thành người, khỉ xynomolgus và chuột

Myostatin tiềm ẩn người (cũng được mô tả ở đây như dạng myostatin tiềm ẩn người) (SEQ ID NO: 1) được biểu hiện tạm thời bằng cách sử dụng các tế bào FreeStyle293-F (các tế bào FS293-F) (Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA). Môi trường có điều kiện chứa dạng myostatin tiềm ẩn người được biểu hiện được axit hóa đến pH 6,8 và được pha loãng với 1/2 vol của nước MilliQ, tiếp đó đưa lên cột trao đổi anion Q-sepharose FF (GE healthcare, Uppsala, Sweden). Phân đoạn chảy qua được điều chỉnh đến pH 5,0 và được đưa lên cột trao đổi cation SP-sepharose HP (GE healthcare, Uppsala, Sweden), và sau đó được rửa giải với gradient NaCl. Các phần chứa dạng myostatin tiềm ẩn người được gom và sau đó được cho qua cột lọc gel Superdex 200 (GE healthcare, Uppsala, Sweden) được làm cân bằng với 1x PBS. Các phần chứa dạng myostatin tiềm ẩn người sau đó được gộp chung và được bảo quản ở -80 °C.

Myostatin trưởng thành người (cũng được mô tả ở đây như dạng myostatin trưởng thành người) (SEQ ID NO: 2) được tinh chế từ dạng myostatin tiềm ẩn người được tinh chế. Dạng myostatin tiềm ẩn người được axit hóa bằng cách bổ sung 0,1% axit trifluoroaxetic (TFA) và được chuyển vào cột pha đảo A Vydac 214TP C4 (Grace, Deerfield, IL, USA) và được rửa giải với gradient TFA/CH_3CN. Các phần chứa myostatin trưởng thành người được gộp chung, làm khô và được bảo quản ở -80 °C. Để phục hồi, myostatin trưởng thành người được hòa tan trong 4mM HCl.

Sự biểu hiện và sự tinh chế của myostatin tiềm ẩn và dạng trưởng thành từ khỉ xynomolgus (xynomolgus hoặc xyno) (SEQ ID NO: 3 và 4, tương ứng) và

chuột (SEQ ID NO: 5 và 6, tương ứng) tất cả chúng được thực hiện chính xác theo cùng cách như bản sao người. Trình tự đồng nhất của dạng trưởng thành trong số người, xyno, và chuột là 100% giống hệt, do đó, myostatin trưởng thành bất kỳ không tính tới các loài được sử dụng như myostatin trưởng thành trong tất cả các thử nghiệm cần thiết.

Ví dụ 2

Nhận dạng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn

Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được điều chế, được chọn, và được thử nghiệm như sau.

Thỏ NZW 12 đến 16 tuổi được gây miễn dịch trong da với myostatin tiềm ẩn chuột và/hoặc myostatin tiềm ẩn người (50-100 micro g/liều/thỏ). Liều này được lặp lại từ 3 đến 4 lần trong thời gian 1 tháng. Một tuần sau khi kết thúc gây miễn dịch, lá lách và huyết từ thỏ được gây miễn dịch được gom. Các tế bào B đặc hiệu kháng nguyên được nhuộm với kháng nguyên được dán nhãn, được phân loại với dụng cụ phân loại tế bào FCM (FACS aria III, BD), và được bọc trong các đĩa 96 giếng với cùng mật độ tế bào/giếng là 25.000 tế bào/giếng đối với tế bào EL4 (European Collection of Cell Cultures) và với môi trường có mặt tế bào T thỏ được pha loãng 20 lần, và được ủ trong khoảng từ 7 đến 12 ngày. Các tế bào EL4 được xử lý với mitomyxin C (Sigma) trong 2 giờ và được rửa 3 lần cải tiến. Môi trường có mặt tế bào T thỏ được điều chế bằng cách cấy các tế bào tuyến ức thỏ trong PPMI-1640 chứa Phytohemagglutinin-M (Roche), phorbol 12-myristat 13-axetat (Sigma) và 2% FBS. Sau khi cấy, các tế bào dịch nổi cấy B được gom để phân tích thêm và các tế bào này được bảo quản đông lạnh.

Thử nghiệm ELISA được sử dụng để thử nghiệm tính đặc hiệu của các kháng thể trong tế bào dịch nổi cấy B. Streptavidin (GeneScript) được phủ trên MAXISorp (Nunc) 384 giếng ở 50nM trong PBS trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa sau đó được phong bế bằng Blocking One (Nacalai Tesque) pha loãng 5 lần. Myostatin tiềm ẩn người hoặc chuột được dán nhãn với NHS-PEG4-Biotin (PIERCE) và được bổ sung cho các đĩa ELISA đã phong bế, được ủ trong 1 giờ, và được rửa với nước muối đệm Tris với 0,05% Tween-20 (TBS-T). các tế bào

dịch nổi cấy B được bổ sung cho các đĩa ELISA, được ủ trong 1 giờ, và được rửa với TBS-T. Gắn kết được phát hiện bằng IgG-horseradish peroxidaza dê kháng thỏ (BETYL) được tiếp theo bằng việc bổ sung ABTS (KPL).

Tổng số 17.818 dòng tế bào B được sàng lọc để gắn kết đặc hiệu với chuột và/hoặc myostatin tiềm ẩn người và 299 dòng được chọn và được chỉ định MST0255-287, 630-632, 677-759, 910, 932-1048, 1050-1055, 1057-1066, 1068, 1070-1073, 1075-1110, 1113-1119. ARN được tinh chế từ các cụm tế bào tương ứng bằng cách sử dụng kit ZR-96 Quick-RNA (ZYMO RESEARCH).

ADN mã hóa các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của mỗi dòng tế bào được chọn được khuếch đại bằng PCR phiên mã ngược và được tách dòng vào vectơ biểu hiện với trình tự vùng ổn định chuỗi nặng G1m (SEQ ID NO: 50 (trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7)) và với trình tự vùng ổn định chuỗi nhẹ k0MTC hoặc K0MC (SEQ ID NO: 53 hoặc 194 (trình tự axit amin (cả hai đều giống nhau) nêu trong SEQ ID NO: 8)), tương ứng. Các kháng thể tái tổ hợp được biểu hiện tạm thời bằng cách sử dụng tế bào FreeStyle FS293-F và 293fectin (Life technologies), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dịch nổi cấy hoặc các kháng thể tái tổ hợp được sử dụng để sàng lọc. Các kháng thể tái tổ hợp được tinh chế với protein A (GE Healthcare) và được tách rửa trong đệm D-PBS hoặc His (20mM Histidin, 150mM NaCl, pH 6,0). Sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện tiếp để loại bỏ thành phần trọng lượng phân tử cao và/hoặc trọng lượng phân tử thấp, nếu cần.

Ví dụ 3

Đặc tính của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (phương pháp phân tích HEK Blue (sự hoạt hóa BMP1))

Thử nghiệm gen báo cáo được sử dụng để đánh giá hoạt tính sinh học của sự hoạt hóa myostatin *in vitro*. Các tế bào HEK-Blue™ TGF-beta (Invivogen) biểu hiện như một gen báo cáo SEAP kích thích (SBE) các thành phần gắn kết Smad3/4, cho phép phát hiện myostatin hoạt hóa sinh học bằng sự hoạt hóa giám sát của các thụ thể activin kiểu 1 và kiểu 2. Sự hoạt hóa myostatin kích thích việc sản xuất

của SEAP mà được tiết ra trong tế bào dịch nổi. Số lượng SEAP được tiết ra sau đó được đánh giá sử dụng QUANTIBlue™ (Invivogen).

Các tế bào HEK-Blue™ TGF-beta được duy trì trong môi trường DMEM (Gibco) được bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò, 50 micro g/mL streptomycin, 50 U/mL penicillin, 100 micro g/mL Normocin™, 30 micro g/mL Blasticidin, 200 micro g/mL HygroGold™ và 100 micro g/mL Zeocin™. Trong suốt quá trình thử nghiệm chức năng, các tế bào được thay đổi môi trường thử nghiệm (DMEM với 0,1% huyết thanh bò albumin, streptomycin, penicillin và Normocin™) và được cấy lên đĩa 96-giếng. Myostatin tiềm ẩn người, xynomolgus, hoặc chuột được ủ với BMP1 người tái tổ hợp (R&D Systems) và kháng thể kháng tiềm ẩn ở 37°C qua đêm. Các hỗn hợp mẫu được truyền đến các tế bào. Sau 24 giờ ủ, tế bào dịch nổi được trộn với QUANTIBlue™ và mật độ quang học ở 620 nm được đo trong đầu đọc đĩa của thiết bị đo màu. Như được thể hiện như Fig. 1, mAb MST1032-G1m (xem Bảng 2a đối với axit amin và các trình tự nucleotit) đã ngăn ngừa sự hoạt hóa myostatin tiềm ẩn được trung gian proteaza của người, xynomolgus, và chuột, như được phản ánh bởi các nồng độ hạ thấp của SEAP được tiết ra. MST1032-G1m cho thấy hoạt tính ức chế gần như tương đương kháng myostatin tiềm ẩn ở người, xynomolgus, và chuột.

Bảng 2a. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và trình tự ADN và axit amin của chúng (như các SEQ ID NO)

Tên kháng thể	Tên viết tắt	Vùng biến đổi				Vùng ổn định			
		Chuỗi nặng		Chuỗi nhẹ		Chuỗi nặng		Chuỗi nhẹ	
		ADN	Protein	ADN	Protein	ADN	Protein	ADN	Protein
MS_MST1032Ha-G1m/MST1032La-k0MC	MST1032-G1m	039	012	041	014	050	007	194	008
MS_MST1032Ha-F760/MST1032La-k0MC	MST1032-F760	039	012	041	014	051	011	194	008
MS_M103205H000-SG1/M103202L000-SK1	MS1032LO00-SG1 hoặc Ab001	040	013	042	015	052	009	054	010
MS_M103205H000-F760/M103202L000-SK1	MS1032LO00-F760	040	013	042	015	051	011	054	010
MS_M103205H714-SG1/M103202L861-SK1	MS1032LO01-SG1	043	032	046	035	052	009	054	010
MS_M103205H781-SG1/M103202L719-SK1	MS1032LO02-SG1	044	033	047	036	052	009	054	010
MS_M103205H781-SG1/M103202L813-SK1	MS1032LO03-SG1	044	033	048	037	052	009	054	010
MS_M103205H707-SG1/M103202L802-SK1	MS1032LO04-SG1	045	034	049	038	052	009	054	010
MS_M103205H714-F760/M103202L861-SK1	MS1032LO01-F760	043	032	046	035	051	011	054	010
MS_M103205H781-F760/M103202L719-SK1	MS1032LO02-F760	044	033	047	036	051	011	054	010
MS_M103205H781-F760/M103202L813-SK1	MS1032LO03-F760	044	033	048	037	051	011	054	010
MS_M103205H707-F760/M103202L802-SK1	MS1032LO04-F760	045	034	049	038	051	011	054	010

49038

Bảng 2b. Các trình tự axit amin HVR của kháng thể myostatin kháng tiềm ẩn (như các SEQ ID NO)

Tên kháng thể	Tên viết tắt	Vùng siêu biến đổi (HVR)					
		H1	H2	H3	L1	L2	L3
MS_MST1032Ha-G1m/MST1032La-k0MC	MST1032-G1m	055	058	061	065	070	073
MS_MST1032Ha-F760/MST1032La-k0MC	MST1032-F760	055	058	061	065	070	073
MS_M103205H000-SG1/M103202L000-SK1	MS1032LO00-SG1 hoặc Ab001	055	058	061	065	070	073
MS_M103205H000-F760/M103202L000-SK1	MS1032LO00-F760	055	058	061	065	070	073
MS_M103205H714-SG1/M103202L861-SK1	MS1032LO01-SG1	057	058	063	067	071	074
MS_M103205H781-SG1/M103202L719-SK1	MS1032LO02-SG1	057	060	063	066	072	073
MS_M103205H781-SG1/M103202L813-SK1	MS1032LO03-SG1	057	060	063	068	070	074
MS_M103205H707-SG1/M103202L802-SK1	MS1032LO04-SG1	056	058	063	069	071	073
MS_M103205H714-F760/M103202L861-SK1	MS1032LO01-F760	057	058	063	067	071	074
MS_M103205H781-F760/M103202L719-SK1	MS1032LO02-F760	057	060	063	066	072	073
MS_M103205H781-F760/M103202L813-SK1	MS1032LO03-F760	057	060	063	068	070	074
MS_M103205H707-F760/M103202L802-SK1	MS1032LO04-F760	056	058	063	069	071	073

49038

217/723

Ví dụ 4

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (phương pháp phân tích HEK Blue (sự hoạt hóa tự phát))

Myostatin tiềm ẩn người, xynomolgus, hoặc chuột được ủ với kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở 37 °C qua đêm và các hỗn hợp mẫu được chuyển đến các tế bào HEK-Blue™ TGF-beta. Sau 24 giờ ủ, tế bào dịch nổi được trộn với QUANTIBlue™ và mật độ quang học ở 620 nm được đo trong đầu đọc đĩa của thiết bị đo màu. Như được thể hiện trên Fig. 2, sự giải phóng của sự hoạt hóa myostatin từ dạng tiềm ẩn của nó được phát hiện sau khi ủ ở 37 °C. Trong sự có mặt của mAb MST1032-G1m, myostatin sự hoạt hóa được ức chế và do đó mức độ SEAP thấp hơn được phát hiện trong tế bào dịch nổi. MST1032-G1m đã ức chế sự hoạt hóa tự phát của myostatin tiềm ẩn, và cho thấy hoạt tính ức chế gần như tương đương myostatin tiềm ẩn kháng người, xynomolgus, và chuột.

Ví dụ 5

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (ELISA)

Các đĩa ELISA không được phủ (đĩa NUNC-IMMUNO bề mặt MAXISORP, Nalge Nunc International) được phủ với 20 micro L của 50nM streptavidin (GenScript) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa sau đó được rửa với PBST ba lần và được chặn với 50 micro L 20% Blocking One (Nacalai Tesque) qua đêm. Vào ngày tiếp theo, mỗi giếng của mỗi đĩa được ủ với myostatin trưởng thành được biotin hóa, myostatin tiềm ẩn được biotin hóa người hoặc chuột, hoặc myostatin chuột tái tổ hợp được biotin hóa propeptit- Fc thể khảm protein (R&D Systems) ở 4nM/giếng/20 micro L trong 2 giờ. Sau khi rửa, 20 micro L mẫu kháng thể được bổ sung cho các giếng và để yên các đĩa trong 1 giờ. Các đĩa này được rửa và 20 micro L IgG-horseradish peroxidaza (HRP kháng người) (Abcam) được pha loãng trong nước muối đệm HEPES được bổ sung, và để yên các đĩa này trong một giờ nữa. Các đĩa sau đó được rửa lại, và bổ sung 50 micro L ABTS (KPL) vào mỗi giếng, và ủ các đĩa này trong 1 giờ. Tín hiệu được phát hiện ở 405 nm bằng đầu đọc

đĩa của thiết bị đo màu. Các kết quả của thử nghiệm gắn kết được thể hiện ở Fig. 3. MST1032-G1m được gắn kết với myostatin tiềm ẩn (tức là, phức hợp không cộng hóa trị của myostatin trưởng thành và các propeptit) và propeptit, nhưng không gắn kết với myostatin trưởng thành. Các kết quả này thể hiện rằng MST1032-G1m cụ thể là gắn kết với propeptit myostatin (ví dụ, phần propeptit), nhưng không hoạt hóa myostatin (ví dụ, vùng trưởng thành).

Ví dụ 6

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (thẩm tách Western)

Myostatin tiềm ẩn chuột được ủ với BMP1 tái tổ hợp người (R&D Systems), với hoặc không có MST1032-G1m ở 37 °C qua đêm. Các mẫu sau đó được trộn với 4x đệm mẫu SDS-PAGE biến đổi (Wako) và gia nhiệt ở 95 °C trong 5 phút và sau đó được nạp lên điện di chuyển gel SDS. Các protein được truyền đến màng bởi hệ truyền Trans-Blot (nhãn hiệu được đăng ký) Turbo™ (Bio-rad). Propeptit myostatin được phát hiện bằng cách sử dụng propeptit kháng thể GDF8 kháng chuột của cừu (R&D Systems), mà sau đó được phát hiện bằng IgG-HRP kháng cừu (Santa Cruz). Màng được ủ với chất nền ECL, và được tạo ảnh sử dụng ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare). Như được thể hiện ở Fig. 4, sự chia tách propeptit bằng BMP1 được ức chế bằng MST1032-G1m.

Ví dụ 7

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký))

Các thông số động lực của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn kháng lại myostatin tiềm ẩn người, khỉ xynomolgus (xyno), và chuột được đánh giá ở 37 °C ở pH 7,4 sử dụng dụng cụ T200BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) (GE Healthcare). ProA/G (Pierce) được cố định trên tất cả các tế bào dòng của vi mạch CM4 sử dụng kit ghép cặp amin (GE Healthcare). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và các chất đang được phân tích được điều chế trong ACES pH 7,4 (20 mM

ACES, 150 mM NaCl, 1,2 mM $CaCl_2$, 0,05% Tween 20, 0,005% NaN_3). Kháng thể được bắt trên bề mặt thiết bị cảm biến bằng ProA/G. Các mức độ bắt giữ kháng thể điển hình là từ 150 đến 220 đơn vị cộng hưởng (RU). Sau đó myostatin tiềm ẩn người, xyno, hoặc chuột được tiêm từ 3,125 đến 50 nM được điều chế bằng chuỗi pha loãng hai lần, được tiếp theo bằng sự phân ly. Bề mặt thiết bị cảm biến được phục hồi bằng 25 mM NaOH. Các thông số động lực được xác định bằng cách xử lý và điều chỉnh dữ liệu đến kiểu gắn kết 1:1 sử dụng Phần mềm đánh giá T200BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), phiên bản 2.0 (GE Healthcare). Các cảm biến sensorgram được thể hiện ở Fig. 5. Tốc độ kết hợp (ka), tốc độ phân ly (kd), và ái lực gắn kết (KD) được liệt kê ở Bảng 3. Các thông số động lực của MST1032-G1m về phía myostatin tiềm ẩn người, xyno, và chuột là tương đương.

Bảng 3

ka, kd, và *KD* của kháng thể MST1032-G1m myostatin kháng tiềm ẩn			
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
Myostatin tiềm ẩn người	1,13E+06	8,65E-05	7,66E-11
Myostatin tiềm ẩn chuột	1,41E+06	8,16E-05	5,79E-11
Myostatin tiềm ẩn xyno	1,09E+06	7,79E-05	7,17E-11

Ví dụ 8

Hiệu quả *in vivo* của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn lên khối lượng cơ và khối lượng mỡ

Hiệu quả *in vivo* của mAb MST1032-G1m đã được đánh giá trên chuột. Kháng thể kháng myostatin trưởng thành 41C1E4 (như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,632,499) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương trong nghiên cứu này. Để tránh điều hòa miễn dịch tiềm ẩn do phản ứng kháng thể kháng người của chuột, các nghiên cứu *in vivo* được thực hiện trên chuột thiếu hụt miễn dịch nghiêm trọng kết hợp miễn dịch (SCID). Chuột SCID (C.B-17 SCID) năm tuần tuổi (Charles River Laboratories Japan, Inc. (Kanagawa, JAPAN)) được điều trị bằng các kháng thể đơn dòng với các liều lượng hoặc chất dẫn thuốc khác nhau (PBS) được tiêm tĩnh

mạch mỗi tuần một lần trong hai tuần. Vào ngày 0, 7 và 14, khối lượng nạc và khối lượng mỡ toàn thân của chuột được đánh giá bằng cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) (minispec LF-50, Bruker Bio Spin, (Kanagawa, JAPAN)). Các con vật được giết chết nhẹ nhàng vào ngày 14, đồng thời các cơ bụng chân và cơ tứ đầu đùi được mổ và cân.

Ý nghĩa thống kê được xác định bởi ANOVA, thử nghiệm t Student và thử nghiệm Dunnett với phần mềm JMP 9 (SAS, Inc.). Giá trị p nhỏ hơn 0,05 được coi là có ý nghĩa.

Các kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trên các Fig. 6A-C. Cả hai kháng thể (MST1032-G1m và 41C1E4) đều làm tăng khối lượng cơ thể nạc tùy thuộc vào liều lượng, và MST1032-G1m, khi được cung cấp ở mức 40 mg/kg, đã giảm đáng kể khối lượng mỡ so với nhóm chất dẫn thuốc (PBS) vào ngày 14.

Sau khi điều trị hai tuần, các kháng thể được cung cấp ở mức 10 mg/kg và 40 mg/kg dẫn đến sự gia tăng đáng kể về trọng lượng ướt cơ trước bắp đùi và cơ bụng chân so với nhóm chất dẫn thuốc.

Ví dụ 9

So sánh hiệu quả *in vivo* của các kháng thể liên quan đến myostatin khác nhau

Tất cả các cài đặt thử nghiệm để so sánh đều giống như trong Ví dụ 8. Các kháng thể khác nhau liên quan đến myostatin, 41C1E4, REGN, OGD, và MYO-029 đã được thử nghiệm trên chuột SCID năm tuần tuổi trong hai tuần. REGN, OGD, và MYO-029 là các kháng thể kháng myostatin trưởng thành được mô tả trong WO 2011/150008 là H4H1657N2, WO 2013/186719 là OGD1.0.0., và WO 2004/037861 là MYO-029, tương ứng. Các kháng thể này được tiêm tĩnh mạch mỗi tuần một lần. Khối lượng cơ thể nạc và khối lượng mỡ được kiểm tra bằng cách quét NMR toàn thân vào ngày 0 và 14. Lực nắm được đo bằng máy đo kiểm tra lực nắm (ví dụ, GPM-100B, MELQUEST Ltd., (Toyama, JAPAN)) vào ngày 14. Như được thể hiện trong các kết quả được trình bày trong các Fig. 7A-C, khối lượng cơ

thể nạc được tăng lên nhờ các kháng thể này ngoại trừ MYO-029 (P>0,05). Lực nắm của nhóm được cung cấp MST1032-G1m đã tăng đáng kể so với nhóm chất dẫn thuốc (PBS), ở mức 10 mg/kg (P<0,05). 41C1E4 và REGN cũng tăng đáng kể lực nắm so với chất dẫn thuốc (PBS). Khối lượng mỡ toàn thân có xu hướng giảm 10 mg/kg MST1032-G1m. Hiệu quả giảm khối lượng mỡ của MST1032-G1m mạnh hơn so với các kháng thể kháng myostatin trưởng thành khác.

Ví dụ 10

Làm tương thích với người kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn

Các gốc axit amin của một kháng thể vùng biến đổi được đánh số thứ tự theo Kabat (Kabat et al., Sequence of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)).

Các vùng biến đổi của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đối với các kháng thể MST1032 được làm tương thích với người được chỉ định. Một vài trong số các kháng thể MST1032 được làm tương thích với người chứa sự đột biến sau trong vùng khung. Các polynucleotit của các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chỉ định được tổng hợp bằng GenScript Inc., và được tách dòng trong các vectơ biểu hiện chứa trình tự vùng ổn định chuỗi nặng SG1 (SEQ ID NO: 52 (trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9)) và trình tự vùng ổn định chuỗi nhẹ SK1 (SEQ ID NO: 54 (trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10)), tương ứng. Các kháng thể được làm tương thích với người tạm thời được biểu hiện trong các tế bào FS293-F, và phương pháp phân tích HEK Blue và phân tích BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) được thực hiện như được mô tả trên đây. Như được thể hiện ở Fig. 8 và Bảng 4, và so với Fig. 1 và 2, kháng thể được làm tương thích với người (MS1032LO00-SG1) đã thể hiện hoạt tính ức chế và ái lực ương đương với kháng thể khảm (MST1032-G1m).

Bảng 4

Các thông số động lực của kháng thể myostatin kháng tiềm ẩn được làm tương thích với người			
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
MST1032-G1m	1,13E+06	8,65E-05	7,66E-11
MS1032LO00-SG1	1,27E+06	9,52E-05	7,50E-11

Ví dụ 11

Sự tạo ra kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH

Để tạo ra các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH, quá trình đột biến quét histidin được thực hiện đối với tất cả các CDR của MAb MS1032LO00-SG1. Mỗi axit amin trong các CDR được biến đổi riêng đối với histidin sử dụng Kit tách dòng HD không dung hợp (công ty Clontech Inc. hoặc Takara Bio) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi xác nhận thông qua sự sắp xếp chuỗi rằng mỗi biến thể được biến đổi chính xác, các biến thể tạm thời được biểu hiện và được tinh chế bằng phương pháp được mô tả trên đây. Tất cả các biến thể được thế histidin được đánh giá bằng thử nghiệm BIACORE được biến đổi (nhãn hiệu được đăng ký) khi so với chúng được mô tả trên đây. Tóm lại, pha phân ly bổ sung ở pH 5,8 được tích hợp trong thử nghiệm BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) ngay tức thì sau pha phân ly ở pH 7,4. Điều này là để đánh giá sự phân ly phụ thuộc pH giữa kháng thể (Ab) và kháng nguyên (Ag) từ các phức hợp được tạo thành ở pH 7,4 tương phản với sự phân ly tương ứng ở pH 5,8. Tốc độ phân ly ở đệm pH 5,8 được xác định bằng cách xử lý và điều chỉnh dữ liệu sử dụng phần mềm điều chỉnh đường cong Scrubber 2,0 (BioLogic Software).

Như được thể hiện ở Fig. 9, kháng thể thể mẹ (Ab001) đã thể hiện không có sự giảm bớt về đáp ứng gắn kết ở pH 5,8 so với pha phân ly pH 7,4. Một vài sự thay thế histidin riêng lẻ đã dẫn đến việc tiết chế sự giảm mạnh về đáp ứng gắn kết ở pH 5,8 so với pha phân ly pH 7,4. Tốc độ phân ly ở pH 5,8 đối với mỗi biến thể thay thế histidin riêng lẻ được thể hiện ở Bảng 5. Như được thể hiện ở Bảng 5, Ab002 đã thể hiện tốc độ phân ly phức hợp Ab/Ag nhanh hơn ở pH 5,8, nhanh hơn

200 lần kháng thể thể mẹ (Ab001). Các kháng thể với sự kết hợp của các đột biến này trong các CDR sau đó được phát sinh. Các trình tự CDR của các kháng thể chứa các đột biến khác nhau này được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 5

Tốc độ phân ly pH 5,8 đối với các kháng thể myostatin kháng tiềm ẩn được thế histidin riêng rẽ			
Tên của vùng biến đổi		Viết tắt	kd (1/s)
Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ		
M103205H000	M103202L000	Ab001	2,92E-05
M103205H001	M103202L000	Ab002	6,09E-03
M103205H009	M103202L000	Ab003	8,80E-04
M103205H026	M103202L000	Ab004	1,86E-04
M103205H028	M103202L000	Ab005	7,63E-05
M103205H000	M103202L008	Ab006	8,58E-05
M103205H028	M103202L008	Ab007	4,15E-04

Bảng 6. Các trình tự và số trình tự của các kháng thể kháng myostatin kháng tiềm ẩn được thế histidin

Chuỗi nặng	Vùng biến đổi	Vùng siêu biến đổi (HVR)			Số Kabat																																
Tên kháng thể		H1	H2	H3	31	32	33	34	35	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	101	102
M103205H000	013	055	058	061	S	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	T	G	G	D	L
M103205H001	016	056	058	061	H	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	T	G	G	D	L
M103205H009	017	055	059	061	S	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	T	G	G	D	L
M103205H026	018	055	058	062	S	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	T	G	G	D	L
M103205H028	019	055	058	063	S	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	H	G	G	D	L
M103205H033	020	056	059	061	H	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	T	G	G	D	L
M103205H034	021	055	059	062	S	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	T	G	G	D	L
M103205H035	022	056	058	062	H	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	T	G	G	D	L
M103205H036	023	056	059	062	H	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	T	G	G	D	L
M103205H707	024	056	058	063	H	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	H	G	G	D	L
M103205H708	025	055	059	063	S	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	H	G	G	D	L
M103205H709	026	055	058	064	S	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	H	G	G	D	L
M103205H710	027	056	059	063	H	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	Y	S	H	G	G	D	L
M103205H711	028	055	059	064	S	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	H	G	G	D	L
M103205H712	029	056	058	064	H	Y	D	I	S	I	I	S	Y	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	H	G	G	D	L
M103205H713	030	056	059	064	H	Y	D	I	S	I	I	S	H	A	G	S	T	Y	Y	A	S	W	A	K	G	G	V	P	A	H	S	H	G	G	D	L

Chuỗi nhẹ

Tên kháng thể	Vùng biến đổi	Vùng siêu biến đổi (HVR)			Số Kabat																																
		L1	L2	L3	24	25	26	27	27a	27b	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	89	90	91	92	93	94	95	95a	96	97
M103202L000	015	065	070	073	Q	S	S	Q	S	V	Y	D	N	N	W	L	S	W	A	S	T	L	A	S	A	G	G	Y	G	G	G	L	Y	A
M103202L008	031	066	070	073	Q	S	S	Q	S	V	Y	H	N	N	W	L	S	W	A	S	T	L	A	S	A	G	G	Y	G	G	G	L	Y	A

49038

Ví dụ 12

Sự cải thiện ái lực của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH

Để nhận dạng các đột biến mà cải thiện ái lực ở pH 7,4 và/hoặc hoạt tính ức chế *in vitro*, nhiều hơn 500 biến thể được phát sinh đối với chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương ứng, sử dụng ít nhất một biến thể được phát sinh trong Ví dụ 11 như một mẫu. Các biến thể này có mỗi axit amin trong các CDR được thế với 18 axit amin khác, loại trừ axit amin gốc và xystein. Khả năng gắn kết của các biến thể với myostatin tiềm ẩn người được đánh giá ở 37 °C dưới pH 7,4 sử dụng dụng cụ BIACORE 4000 (nhãn hiệu được đăng ký) (GE Healthcare). Dịch nổi cấy chứa các biến thể biểu hiện trong các tế bào FS293-F được điều chế với đệm ACES pH 7,4 chứa 10mg/ml BSA và 0,1mg/ml cacboxymetyl dextran (CMD). Mỗi kháng thể được bắt trên các tế bào dòng cho đến khi mức bắt giữ đạt đến xung quanh 200 RU. Sau đó, 25 nM myostatin tiềm ẩn người được tiêm trên các tế bào dòng. Pha phân ly bổ sung ở pH 5,8 được tích hợp trong) thử nghiệm BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký ngay tức thì sau khi pha phân ly ở pH 7,4. Pha phân ly bổ sung này quyết định sự phân ly phụ thuộc pH giữa kháng thể (Ab) và kháng nguyên (Ag) từ các phức hợp được tạo thành ở pH 7,4. Bề mặt tế bào dòng được phục hồi với 25 mM NaOH. Các thông số động lực được xác định sử dụng Phần mềm đánh giá BIACORE 4000 (nhãn hiệu được đăng ký), phiên bản 2.0 (GE Healthcare). Sự phân tích về sự phân ly bổ sung ở pH 5,8 được thực hiện sử dụng Scrubber2 (BioLogic Software).

Các biến thể với ái lực được cải thiện ở pH 7,4 và/hoặc sự ức chế hoạt tính được chọn *in vitro*, và được kết hợp với các đột biến cải thiện sự phụ thuộc pH được đồng nhất ở Ví dụ 9. Sau sự kết hợp của các đột biến này, bốn biến thể (MS1032LO01, 02, 03, và 04) được chọn, và tạm thời được biểu hiện với SG1 hoặc F760 (SEQ ID NO: 11 và 51) đối với sự phân tích động lực gắn kết BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký), các thử nghiệm *in vitro* và/hoặc *in vivo*. Cả SG1 và F760 là các chuỗi nặng vùng ổn định người. Các ái lực gắn kết của SG1 kháng lại các Fc gama R người là tương đương với vùng ổn định IgG1 tự nhiên, nhưng mà của F760

là đã bị loại bỏ bởi sự biến đổi Fc (cũng được mô tả ở đây như Fc câm). Axit amin và các trình tự nucleotit của bốn biến thể kháng myostatin được thể hiện ở Bảng 2a.

Ví dụ 13

Đặc trưng của các biến thể MS1032 phụ thuộc pH (phương pháp phân tích HEK Blue (BMP1 và sự hoạt hóa tự phát))

Tất cả các sự sắp đặt thử nghiệm là giống như ở các ví dụ 3 và 4. Như được thể hiện ở Fig. 10, tất cả các biến thể đã thể hiện sự ức chế hoạt tính kháng myostatin tiềm ẩn người tương đương với MS1032LO00-SG1.

Ví dụ 14

Đặc trưng của các biến thể MS1032 phụ thuộc pH (BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký))

Tất cả sự sắp đặt thử nghiệm là giống như ở Ví dụ 7, loại trừ các sự đo cũng được thực hiện trong đệm ACES pH 5,8 bổ sung cho trạng thái ACES pH 7,4. Một vài kháng thể chỉ được xác định kháng myostatin tiềm ẩn người. Mức bắt giữ kháng thể được nhắm đến ở 185 RU và 18,5 RU, đối với sự mong muốn và thử nghiệm ái lực, tương ứng. Các thông số động lực được xác định sử dụng điều chỉnh gắn kết 1:1 sử dụng Phần mềm đánh giá BIACORE T200 (nhãn hiệu được đăng ký), phiên bản 2.0 (GE Healthcare). Các cảm biến sensorgram của toàn bộ các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn người với trạng thái mong muốn được thể hiện ở Fig. 11, và ka, kd, và KD được tính theo các điều kiện khác nhau được liệt kê trong các Bảng 7-10. Dưới điều kiện mong muốn, tất cả các kháng thể, trừ MS1032LO00-SG1, đã thể hiện tốc độ phân ly nhanh hơn dưới pH có tính axit hơn pH trung tính. Trong điều kiện ái lực, tất cả các kháng thể, trừ MS1032LO00-SG1, thể hiện có sự tương tác yếu với myostatin tiềm ẩn trong điều kiện pH có tính axit và do đó, các thông số động lực không được xác định.

Bảng 7

ka, kd và *KD* của thử nghiệm trạng thái mong muốn dưới pH trung tính

	Myostatin tiềm ẩn người			Myostatin tiềm ẩn chuột			Myostatin tiềm ẩn xyno		
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
MS1032LO00-SG1	1,27E+06	9,52E-05	7,50E-11	1,52E+06	7,18E-05	4,71E-11	1,21E+06	8,08E-05	6,66E-11
MS1032LO01-SG1	1,27E+06	2,16E-04	1,70E-10	1,45E+06	2,17E-04	1,49E-10	1,19E+06	1,97E-04	1,65E-10
MS1032LO02-SG1	8,36E+05	2,49E-04	2,98E-10	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO03-SG1	9,81E+05	1,92E-04	1,96E-10	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO04-SG1	1,33E+06	2,17E-04	1,63E-10	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T

N/T: không được thử nghiệm

Bảng 8

ka, kd và *KD* của thử nghiệm trạng thái mong muốn dưới pH tính axit

	Myostatin tiềm ẩn người			Myostatin tiềm ẩn chuột			Myostatin tiềm ẩn xyno		
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
MS1032LO00-SG1	1,60E+06	1,28E-04	7,97E-11	2,32E+06	2,02E-05	8,70E-12	1,79E+06	1,58E-05	8,83E-12
MS1032LO01-SG1	1,22E+06	2,42E-02	1,99E-08	1,02E+06	6,25E-03	6,15E-09	7,64E+05	6,80E-03	8,90E-09
MS1032LO02-SG1	1,70E+06	4,14E-02	2,43E-08	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO03-SG1	5,43E+05	5,24E-03	9,66E-09	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO04-SG1	7,81E+05	7,13E-03	9,13E-09	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T

N/T: không được thử nghiệm

49038

228/723

Bảng 9

ka, kd và *KD* của thử nghiệm trạng thái ái lực dưới pH trung tính

	Myostatin tiềm ẩn người			Myostatin tiềm ẩn chuột			Myostatin tiềm ẩn xyno		
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
MS1032LO00-SG1	1,07E+06	2,45E-04	2,30E-10	1,31E+06	1,60E-04	1,22E-10	1,02E+06	2,13E-04	2,09E-10
MS1032LO01-SG1	1,64E+06	1,29E-03	7,88E-10	1,50E+06	1,07E-03	7,13E-10	1,15E+06	1,10E-03	9,54E-10
MS1032LO02-SG1	1,09E+06	1,79E-03	1,64E-09	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO03-SG1	1,08E+06	1,17E-03	1,08E-09	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO04-SG1	1,54E+06	1,25E-03	8,12E-10	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T

N/T: không được thử nghiệm

Bảng 10

ka, kd và *KD* của thử nghiệm trạng thái ái lực dưới pH tính axit

	Myostatin tiềm ẩn người			Myostatin tiềm ẩn chuột			Myostatin tiềm ẩn xyno		
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)	*ka* ($M^{-1}s^{-1}$)	*kd* (s^{-1})	*KD* (M)
MS1032LO00-SG1	1,09E+06	2,35E-04	2,15E-10	1,62E+06	7,08E-05	4,38E-11	1,41E+06	1,96E-04	1,39E-10
MS1032LO01-SG1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MS1032LO02-SG1	n.d.	n.d.	n.d.	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO03-SG1	n.d.	n.d.	n.d.	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T
MS1032LO04-SG1	n.d.	n.d.	n.d.	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T	N/T

n.d.: không được xác định, N/T: không được thử nghiệm

49038

229/723

Ví dụ 15

So sánh về tổng nồng độ myostatin huyết tương giữa các kháng thể với Fc gama R gắn kết và Fc gama R gắn kết đã thủ tiêu ở chuột

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng C.B-17 SCID chuột

Sự tích tụ của myostatin nội sinh được đánh giá *in vivo* trong khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở chuột C.B-17 SCID (In vivos, Singapore). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (3mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi. Máu được gom 5 phút, 7 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 28 ngày sau khi cung cấp. Máu đã gom được ly tâm ngay tức thì ở 14.000 vòng/phút trong 4°C trong 10 phút để tách huyết tương. Huyết tương sau khi tách được bảo quản ở hoặc dưới -80 °C cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO00-SG1 và MS1032LO00-F760.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng ECL. Các đĩa được cố định kháng myostatin trưởng thành được điều chế bằng cách phân tán kháng thể RK35 kháng myostatin trưởng thành (như được mô tả trong WO 2009/058346) trên đĩa 96 giếng MULTI-ARRAY (Meso Scale Discovery) và được ủ qua đêm ở 4°C. Các mẫu đường cong hiệu chỉnh myostatin trưởng thành và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 40-lần hoặc thấp hơn được điều chế. Các mẫu được trộn trong dung dịch axit (0,2 M Glyxin-HCl, pH 2,5) để phân tách myostatin trưởng thành ra khỏi protein gắn kết của nó (như propeptit). Sau đó, các mẫu được bổ sung trên đĩa và giữ cố định kháng myostatin trưởng thành, và được cho gắn kết trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Tiếp theo, SULFO TAG được dán nhãn kháng thể RK22 kháng myostatin trưởng thành (như được mô tả ở WO 2009/058346) được bổ sung và đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) ngay tức thì được bổ sung cho đĩa và tín hiệu được phát hiện bằng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery). Nồng độ myostatin trưởng thành được tính toán dựa vào sự đáp ứng của đường

cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích SOFTmax PRO (Molecular Devices). Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 12.

Ảnh hưởng của Fc gama R gắn kết lên sự tích tụ myostatin *in vivo*

Sau khi cung cấp kháng thể MS1032LO00-F760, tổng nồng độ myostatin huyết tương vào ngày 28 được làm giàu 248 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Ngược lại, sau khi cung cấp MS1032LO00-SG1, tổng nồng độ myostatin huyết tương vào ngày 28 được làm giàu 37 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Xấp xỉ 7 lần sự khác biệt về tổng nồng độ myostatin huyết tương vào ngày 28 được quan sát giữa MS1032LO00-F760 (Fc câm) và MS1032LO00-SG1 do Fc gama R gắn kết. Trong IL-6R hòa tan người (hsIL-6R), không có sự khác biệt đáng kể về 6R nồng độ huyết tương hsIL- được quan sát giữa kháng hsIL-6R kháng thể-F760 (Fc câm) và -SG1 như được mô tả ở WO 2013/125667. Do hsIL-6R là kháng nguyên monomeric, phức hợp kháng thể-hsIL-6R chỉ chứa 1 Fc. Do đó, kết quả trong WO 2013/125667 đã đề xuất rằng phức hợp kháng thể-kháng nguyên với 1 Fc không có sự gắn kết đáng kể với Fc gama R *in vivo* để đẩy nhanh sự hấp thu của phức hợp thể miễn dịch bằng các tế bào. Mặt khác, với kháng nguyên multimeric (như myostatin), kháng thể có thể tạo ra phức hợp thể miễn dịch lớn và phức hợp kháng thể-kháng nguyên chứa nhiều hơn 2 Fc. Do đó, sự khác biệt đáng kể về nồng độ kháng nguyên huyết tương có thể được quan sát giữa F760 và SG1 do sự gắn kết mong muốn mạnh kháng Fc gama R. Kết quả đề xuất rằng MST1032 có thể tạo thành phức hợp thể miễn dịch lớn trong đó chứa nhiều hơn 2 kháng thể với myostatin.

Ví dụ 16

So sánh về tổng nồng độ myostatin huyết tương giữa kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH và kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH ở chuột

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng C.B-17 SCID chuột

Sự tích tụ *in vivo* của myostatin chuột nội sinh được đánh giá sau khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở chuột C.B-17 SCID (In vivos, Singapore) như được mô tả trong Ví dụ 15. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO01-SG1 và MS1032LO01-F760.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng ECL

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng ECL như được mô tả trong Ví dụ 15. Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn như được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 13.

Ảnh hưởng của myostatin gắn kết phụ thuộc pH lên sự tích tụ myostatin *in vivo*

Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH (MS1032LO01-SG1 và MS1032LO01-F760) được thử nghiệm *in vivo* và sự so sánh về tổng nồng độ myostatin huyết tương được thực hiện. Kết quả đo tổng nồng độ myostatin sau khi cung cấp MS1032LO00-SG1 và MS1032LO00-F760 được mô tả trong Ví dụ 15 cũng được thể hiện ở Fig. 13. MS1032LO00 là kháng thể không phụ thuộc pH và MS1032LO01 là kháng thể phụ thuộc pH. Như được thể hiện ở Fig. 13, tổng nồng độ myostatin sau khi cung cấp MS1032LO01-F760 là giảm so với MS1032LO00-F760 do gắn kết phụ thuộc pH. Hơn nữa, tổng nồng độ myostatin sau khi cung cấp MS1032LO01-SG1 là giảm đáng kể so với MS1032LO00-SG1 do gắn kết phụ thuộc pH và tăng hấp thụ tế bào bởi gắn kết Fc gama R. Nó được mong đợi rằng MS1032LO01-SG1 có đặc tính nâng cao sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương tốt hơn như "quét kháng thể".

Ví dụ 17

Hiệu quả *in vivo* của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH

Tất cả các cài đặt thử nghiệm đều giống như trong Ví dụ 8. Như được thể hiện trong Fig. 14, khi tiêm tĩnh mạch cho chuột SCID với các liều 0,2, 1, và 5 mg/kg, MS1032LO00-SG1 (kháng thể không quét) và MS1032LO01-SG1 (kháng thể quét) tăng khối lượng cơ xương theo liều dùng sau 2 tuần. MS1032LO01-SG1 tăng đáng kể trọng lượng ướt và lực nắm của cơ tứ đầu ở mức 1 và 5 mg/kg, đồng thời

tăng đáng kể khối lượng cơ thể nạc và trọng lượng ướt cơ bụng chân ở mức 5 mg/kg so với nhóm chất dẫn thuốc (PBS). MS1032LO01-SG1 cũng giảm đáng kể khối lượng mỡ ở mức 1 và 5 mg/kg so với nhóm chất dẫn thuốc (PBS). MS1032LO00-SG1 cho thấy không tăng khối lượng cơ thể nạc ở mức 0,2 mg/kg. Mặt khác, MS1032LO01-SG1 tăng đáng kể khối lượng cơ thể nạc, trọng lượng ướt cơ trước bắp đùi, trọng lượng ướt cơ bụng chân và lực nắm ở mức 0,2 mg/kg. Do đó, kháng thể gắn kết phụ thuộc pH cho thấy sự phát triển khối lượng cơ lớn hơn và cải thiện sức mạnh cơ so với kháng thể gắn kết không phụ thuộc pH.

Ví dụ 18

Biểu hiện và sự tinh chế của GDF11 tiềm ẩn người và chuột

GDF11 người với nhãn Flag trên đầu N (cũng được mô tả ở đây như Flag-hGDF11, GDF11 người tiềm ẩn, hGDF11, hoặc GDF11 người, SEQ ID NO: 85) được biểu hiện tạm thời sử dụng các tế bào FreeStyle293-F (Thermo Fisher). Môi trường có điều kiện biểu hiện Flag-hGDF11 được áp dụng cho cột được nén chặt chất nhân tạo ái lực kháng Flag M2 (Sigma) và được rửa giải bằng Flag peptit (Sigma). Các phần chứa Flag-hGDF11 được gom và sau đó được cho qua cột lọc gel Superdex 200 (GE healthcare) được làm cân bằng với 1x PBS. Các phần chứa Flag-hGDF11 sau đó được gộp chung và được bảo quản ở -80°C.

Ví dụ 19

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (ELISA)

Các đĩa ELISA không được phủ (đĩa NUNC-IMMUNO bề mặt MAXISORP, Nalge Nunc International) được phủ với 20 micro L của 50nM streptavidin (GenScript) trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa sau đó được rửa với PBST ba lần và được chặn với 50 micro L 20% Blocking One (Nacalai Tesque) qua đêm. Một ngày sau, mỗi giếng của các đĩa được ủ với myostatin tiềm ẩn người được biotin hóa ở 2nM/giếng/20 micro L hoặc được biotin hóa GDF11 tiềm ẩn người ở 20nM/giếng/20 micro L trong 2 giờ. Sau khi rửa, 20 micro L của mẫu kháng thể được bổ sung cho các giếng và các đĩa được rời đi trong 1 giờ. Các đĩa được rửa và 20 micro L của IgG-horseradish peroxidaza kháng người (HRP) (Abcam) được pha loãng trong nước muối đệm HEPES được bổ sung, và các đĩa được rời đi trong giờ

khác. Các giếng được rửa lại, và sau đó 50 micro L ABTS (KPL) được bổ sung cho mỗi giếng, và các đĩa được ủ trong 1 giờ. Tín hiệu được phát hiện ở 405 nm trong đầu đọc đĩa của thiết bị đo màu. Các kết quả của thử nghiệm gắn kết được thể hiện ở Fig. 15. MST1032-G1m được gắn kết với myostatin tiềm ẩn (tức là, phức hợp không cộng hóa trị của myostatin trưởng thành và các propeptit), nhưng không gắn kết với hGDF11. Các kết quả này thể hiện rằng MST1032-G1m cụ thể là gắn kết với myostatin, không gắn kết với hGDF11.

Ví dụ 20

Đặc trưng của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (phương pháp phân tích HEK Blue (BMP1 và sự hoạt hóa tự phát))

Thử nghiệm gen báo cáo được sử dụng để đánh giá hoạt tính sinh học của sự hoạt hóa GDF11 *in vitro*. Các tế bào HEK-Blue™ TGF-beta (Invivogen) biểu hiện gen báo cáo SEAP suy diễn (SBE) yếu tố gắn kết Smad3/4, cho phép dò hoạt hóa sinh học GDF11 bằng sự hoạt hóa giám sát của các thụ thể activin kiểu 1 và kiểu 2. Sự hoạt hóa GDF11 kích thích việc sản xuất và bài tiết của SEAP trong tế bào dịch nổi. Số lượng SEAP được tiết ra sau đó được đánh giá sử dụng QUANTIBlue™ (Invivogen).

Các tế bào HEK-Blue™ TGF-beta được duy trì trong môi trường DMEM (Gibco) được bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò, 50 micro g/mL streptomycin, 50 U/mL penicillin, 100 micro g/mL normocin™, 30 micro g/mL Blasticidin, 200 micro g/mL hygroGold™ và 100 micro g/mL zeocin™. Trong suốt thử nghiệm chức, các tế bào được thay đổi môi trường thử nghiệm (DMEM với 0,1% huyết thanh bò albumin, streptomycin, penicillin và normocin™) và được rắc hạt cho đĩa 96 giếng. GDF11 người được ủ với hoặc không có BMP1 người tái tổ hợp (Calbiochem) và kháng thể kháng tiềm ẩn (MST1032-G1m) ở 37°C qua đêm. Các hỗn hợp mẫu được truyền đến các tế bào. Sau 24 giờ ủ, tế bào dịch nổi được trộn với QUANTIBlue™ và mật độ quang học ở 620 nm được đo trong đầu đọc đĩa của thiết bị đo màu. Như được thể hiện như Fig. 16, MST1032-G1m không ngăn ngừa proteaza-được trung gian hoặc sự hoạt hóa tự phát của GDF11 người và do đó không có khả năng ức chế sự bài tiết của SEAP.

Ví dụ 21

Sự tối ưu hóa hơn nữa của các biến thể MS1032 để nâng cao hiệu quả quét như kháng thể phụ thuộc pH, MS1032LO01-SG1, đã thể hiện hiệu suất cao ở chuột, sự tối ưu hóa hơn nữa được thực hiện để tăng cường sự phụ thuộc pH, tăng cường sự chiếm giữ trong các tế bào, tăng cường sự ổn định, và cho nên bằng cách đưa vào các đột biến trong kháng thể các CDR hoặc bằng cách thay đổi các vùng khung. Nhiều hơn một nghìn biến thể được đánh giá trong BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) và/hoặc Phương pháp phân tích HEK Blue như được trên đây, và MS1032LO06-SG1, MS1032LO07-SG1, MS1032LO10-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO12-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1, MS1032LO23-SG1, MS1032LO24-SG1, MS1032LO25-SG1, và MS1032LO26-SG1 được phát sinh. Axit amin của chúng và các trình tự nucleotit của các kháng thể tạo ra này được thể hiện ở Bảng 11.

Bảng 11a

Các biến thể MS1032 và ADN của chúng và các trình tự axi amin (được thể hiện như các SEQ ID NO)

Tên kháng thể	Tên viết tắt	Vùng biến đổi				Vùng ổn định			
		Chuỗi nặng		Chuỗi nhẹ		Chuỗi nặng		Chuỗi nhẹ	
		ADN	Protein	ADN	Protein	ADN	Protein	ADN	Protein
MS_M103205H795-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO06-SG1	100	86	110	96	052	009	054	010
MS_M103205H1004-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO07-SG1	101	87	110	96	052	009	054	010
MS_M103205H1046-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO10-SG1	102	88	110	96	052	009	054	010
MS_M103205H1047-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO11-SG1	103	89	110	96	052	009	054	010
MS_M103205H1057-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO12-SG1	104	90	110	96	052	009	054	010
MS_M103205H1186-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO18-SG1	105	91	110	96	052	009	054	010
MS_M103240H795-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO19-SG1	106	92	111	97	052	009	054	010
MS_M103245H795-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO21-SG1	107	93	111	97	052	009	054	010
MS_M103245H1233-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO23-SG1	108	94	111	97	052	009	054	010
MS_M103205H795-SG1/M103202L1060-SK1	MS1032LO24-SG1	100	86	112	98	052	009	054	010
MS_M103240H1246-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO25-SG1	109	95	111	97	052	009	054	010
MS_M103240H795-SG1/M103209L1045-SK1	MS1032LO26-SG1	106	92	113	99	052	009	054	010

49038

Bảng 11b

Các trình tự axit amin HVR của các biến thể MS1032 (được thể hiện như các SEQ ID NO)

Tên kháng thể	Tên viết tắt	Vùng siêu biến đổi (HVR)					
		H1	H2	H3	L1	L2	L3
MS_M103205H795-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO06-SG1	114	58	63	122	71	74
MS_M103205H1004-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO07-SG1	114	116	121	122	71	74
MS_M103205H1046-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO10-SG1	57	117	63	122	71	74
MS_M103205H1047-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO11-SG1	57	118	63	122	71	74
MS_M103205H1057-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO12-SG1	57	119	63	122	71	74
MS_M103205H1186-SG1/M103202L889-SK1	MS1032LO18-SG1	114	118	63	122	71	74
MS_M103240H795-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO19-SG1	114	58	63	123	71	74
MS_M103245H795-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO21-SG1	114	58	63	123	71	74
MS_M103245H1233-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO23-SG1	115	58	63	123	71	74
MS_M103205H795-SG1/M103202L1060-SK1	MS1032LO24-SG1	114	58	63	124	125	74
MS_M103240H1246-SG1/M103202L1045-SK1	MS1032LO25-SG1	115	120	63	123	71	74
MS_M103240H795-SG1/M103209L1045-SK1	MS1032LO26-SG1	114	58	63	123	71	74

49038

Ái lực của biến thể MS1032 gắn kết với người, khỉ xynomolgus (xyno), hoặc myostatin tiềm ẩn chuột ở pH 7,4 và pH 5,8 được xác định ở 37 °C sử dụng dụng cụ BIACORE T200 (nhãn hiệu được đăng ký) (GE Healthcare) để đánh giá ảnh hưởng của pH lên sự gắn kết kháng nguyên. ProA/G (Pierce) được cố định trên tất cả các tế bào dòng của vi mạch CM4 sử dụng kit ghép cặp amin (GE Healthcare). Tất cả các kháng thể và chất đang được phân tích được điều chế trong đệm ACES pH 7,4 hoặc pH 5,8 chứa 20 mM ACES, 150 mM NaCl, 1,2 mM $CaCl_2$, 0,05% Tween 20, 0,005% NaN_3. Mỗi kháng thể được bắt trên bề mặt thiết bị cảm biến bằng proA/G. Các mức độ bắt kháng thể điển hình là 130 đến 240 đơn vị cộng hưởng (RU). Myostatin tiềm ẩn người, xyno, và chuột được tiêm ở 3,125 đến 50 nM được điều chế bằng chuỗi pha loãng hai lần, tiếp theo là bằng sự phân ly. Bề mặt thiết bị cảm biến được phục hồi mỗi chu kỳ với 10 mM Glyxin HCl pH1,5. Ái lực gắn kết được xác định bằng việc xử lý và điều chỉnh dữ liệu đến kiểu gắn kết 1:1 sử dụng phần mềm đánh giá BIACORE T200 (nhãn hiệu được đăng ký), phiên bản 2.0 (GE Healthcare).

Ái lực (KD) của các biến thể MS1032 gắn kết với người, khỉ xynomolgus (xyno), và myostatin tiềm ẩn chuột ở pH 7,4 và pH 5,8 được thể hiện ở Bảng 12. Tất cả các biến thể đã thể hiện tỷ lệ kd ((KD ở pH 5,8)/(KD ở pH 7,4)) là trên 5, biểu lộ việc gắn kết với myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH.

Bảng 12

Các thông số động lực của các biến thể MS1032

Tên viết tắt	Tên vùng biến đổi		Myostatin tiềm ẩn người			Myostatin tiềm ẩn xyno			Myostatin tiềm ẩn chuột		
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	KD pH 7,4 (M)	KD pH 5,8 (M)	Tỷ lệ của KD ở pH 5,8/pH 7,4	KD pH 7,4 (M)	KD pH 5,8 (M)	Tỷ lệ của KD ở pH 5,8/pH 7,4	KD pH 7,4 (M)	KD pH 5,8 (M)	Tỷ lệ của KD ở pH 5,8/pH 7,4
MS1032LO06-SG1	M103205H795	M103202L889	2,85E-10	3,40E-08	119	3,43E-10	2,59E-08	76	2,99E-10	2,26E-08	76
MS1032LO07-SG1	M103205H1004	M103202L889	2,75E-10	4,62E-08	168	3,39E-10	3,47 E-08	102	3,19E-10	3,08E-08	97
MS1032LO10-SG1	M103205H1046	M103202L889	3,51E-10	4,38E-08	125	4,19E-10	1,61E-08	38	3,14E-10	1,09E- 08	35
MS1032LO11-SG1	M103205H1047	M103202L889	4,19E-10	1,43E-07	341	5,02E-10	4,35E-08	87	3,62E-10	2,92E-08	81
MS1032LO12-SG1	M103205H1057	M103202L889	4,07E-10	8,49E-08	209	4,92E-10	3,58E-08	73	4,13E-10	2,48E-08	60
MS 1032 LO18-SG1	M103205H1186	M103202L889	3,29E-10	n.d.	n.d.	3,54E-10	8,09E- 08	229	2,72E-10	n.d.	n.d.
MS1032 LO19-SG1	M103240H795	M103202L1045	2,73E-10	4,58E-08	168	3,26E-10	3,56E-08	109	2,71E-10	2,87E-08	106
MS1032LO21-SG1	M103245H795	Ml03202L1045	2,57E-10	5,23E-08	204	3,09E-10	3,10E-08	100	2,61E-10	2,94E-08	113
MS1032LO23-SG1	M103245H1233	M103202L1045	2,60E-10	1,61E-08	62	2,99E-10	7,71 E-09	26	2,66E-10	6,40E-09	24
MS1032LO24-SG1	M103205H795	M103202L1060	1,64E-10	1,52E-09	9	1,89E-10	9,29E-10	5	1,76E-10	1,02 E-09	6
MS1032LO25-SG1	M103240H1246	M103202L1045	2,76E-10	2,55E-08	92	3,40E-10	1,41E-08	41	2,59E-10	9,88E-09	38

n.d.: Không được xác định

Ví dụ 22

Đánh giá về hoạt tính trung tính của các biến thể được tối ưu hóa thêm trong phương pháp phân tích HEK Blue

Đã được đánh giá hoạt tính trung hòa của MS1032LO06-SG1, MS1032LO07-SG1, MS1032LO10-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO12-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1, MS1032LO23-SG1 và MS1032LO25-SG1 kháng myostatin tiềm ẩn người như được mô tả trong Ví dụ 3. Như được thể hiện ở Fig. 17, tất cả các biến thể đều thể hiện hoạt tính tương đương với MS1032LO01-SG1.

Ví dụ 23

So sánh về tổng nồng độ myostatin huyết tương giữa kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH khác ở chuột

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng C.B-17 SCID chuột

Sự tích tụ của myostatin nội sinh được đánh giá *in vivo* trong khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở C.B-17 SCID chuột (*In vivo*s, Singapore). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (3mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi. Huyết được gom 5 phút, 7 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 28 ngày sau khi cung cấp. Huyết đã gom được phân ly ngay tức thì ở 14.000 vòng/phút trong 4°C trong 10 phút để tách huyết tương. Huyết tương được tách được bảo quản ở hoặc dưới -80°C cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được thử nghiệm là MS1032LO00-SG1, MS1032LO01-SG1, MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1 và MS1032LO25-SG1.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng ECL. Các đĩa được cố định kháng myostatin trưởng thành được điều chế bằng cách phân tán kháng thể RK35 kháng myostatin trưởng thành được biotin hóa (như được mô tả ở WO 2009/058346) trên đĩa streptavidin 96 giếng MULTI-ARRAY (Meso Scale Discovery) và được ủ trong đệm chặn trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các mẫu hiệu chỉnh đường cong myostatin trưởng thành và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 40-lần hoặc nhiều hơn được điều chế. Các mẫu được trộn trong dung dịch axit (0,2 M Glyxin-HCl, pH2,5) để phân tách myostatin trưởng thành từ protein gắn kết của nó (như propeptit). Sau đó, các mẫu được bổ sung trên đĩa giữ cố định kháng myostatin trưởng thành, và được cho để gắn kết trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Tiếp theo, kháng thể RK22 kháng myostatin trưởng thành được dán nhãn SULFO TAG (như được mô tả ở WO 2009/058346) được bổ sung và đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) ngay tức thì được bổ sung cho đĩa và tín hiệu được phát hiện bằng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery). Nồng độ myostatin trưởng thành được tính toán dựa vào sự đáp ứng của đường cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích SOFTmax PRO (Molecular Devices). Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 18.

Ảnh hưởng của myostatin gắn kết phụ thuộc pH lên sự tích tụ myostatin ở nghiên cứu *in vivo* chuột

Ảnh hưởng của sự phụ thuộc pH lên sự tích tụ myostatin ở chuột được so sánh sử dụng kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH khác (MS1032LO01-SG1, MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1 và MS1032LO25-SG1). Việc đưa vào sự phụ thuộc pH đẩy nhanh đáng kể sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương chuột SCID. Như được thể hiện ở Fig. 18, các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH (MS1032LO01-SG1,

MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, MS1032LO21-SG1 và MS1032LO25-SG1) có thể giảm sự tích tụ myostatin so với kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) vào ngày 28.

Ví dụ 24

So sánh về tổng nồng độ myostatin huyết tương giữa kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn không phụ thuộc pH và các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn với cả kỹ thuật Fc và pH ở khỉ xynomologous

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng khỉ xynomolgus

Sự tích tụ của myostatin nội sinh được đánh giá *in vivo* trong khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở Macaca fascicularis 2-4 tuổi (khỉ xynomolgus) từ Campuchia (Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd., Japan). Mức liều dùng 30 mg/kg được tiêm trong tĩnh mạch trong đầu của cẳng tay sử dụng ống tiêm dùng một lần, ống nối dài, kim tiêm nằm trong, và bơm truyền. Tốc độ cho mỗi liều là 30 phút cho mỗi cơ thể. Máu được gom trước khi bắt đầu sử dụng liều dùng và hoặc 5 phút, 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 và 56 ngày sau khi chấm dứt sử dụng liều dùng, hoặc 5 phút và 2, 4, và 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 và 56 ngày sau khi chấm dứt sử dụng liều dùng. Máu được rút ra từ tĩnh mạch đùi với ống tiêm chứa natri eparin. Máu ngay tức thì được làm mát trên đá, và huyết tương thu được bằng sự ly tâm ở 4°C, 1700 x g trong 10 phút. Các mẫu huyết tương được bảo quản trong thiết bị bảo quản ở nhiệt độ rất thấp (phạm vi có thể chấp nhận được: -70°C hoặc thấp hơn) cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO00-SG1, MS1032LO06-SG1012, MS1032LO06-SG1016, MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031, MS1032LO06-SG1033, và MS1032LO06-SG1034 (ở đây, SG1012, SG1016, SG1029, SG1031, SG1033, và SG1034 là các chuỗi nặng vùng ổn định được dựng dựa vào SG1 như được mô tả dưới đây).

Mức liều dùng 2mg/kg được cung cấp trong tĩnh mạch trong đầu của cẳng tay hoặc tĩnh mạch bằng cách sử dụng ống tiêm và kim tiêm dùng một lần đối với các

kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081, và MS1032LO19-SG1077 (ở đây, SG1079, SG1071, SG1080, SG1074, SG1081, và SG1077 là các chuỗi nặng vùng ổn định được dựng dựa vào SG1 như được mô tả dưới đây). Huyết được gom trước khi bắt đầu cấp liều và 5 phút và 2, 4, và 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14 ngày sau khi chấm dứt sử dụng liều dùng. Huyết được xử lý như được mô tả trên đây. Các mẫu huyết tương được bảo quản trong thiết bị bảo quản ở nhiệt độ rất thấp (phạm vi có thể chấp nhận được: -70°C hoặc thấp hơn) cho đến khi đo.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương khỉ được đo bằng ECL như được mô tả trong Ví dụ 23. Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn như được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 19.

Đo ADA trong huyết tương khỉ sử dụng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Thuốc được biotin hóa được phủ trên đĩa streptavidin 96 giếng A MULTI-ARRAY (Meso Scale Discovery) và được ủ trong đệm lai thấp (Candor) trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các mẫu huyết tương khỉ được pha loãng 20 lần trong đệm lai thấp trước khi bổ sung lên đĩa. Các mẫu được ủ qua đêm ở 4°C. Vào ngày kế tiếp, đĩa được rửa ba lần với đệm rửa trước khi bổ sung kháng thể thứ cấp IgG kháng khỉ được dán nhãn SULFO TAG (Thermo Fisher Scientific). Sau khi ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng, đĩa được rửa ba lần với đệm rửa. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) ngay tức thì được bổ sung cho đĩa và tín hiệu được phát hiện bằng cách sử dụng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery).

Ảnh hưởng của phụ thuộc pH và kỹ thuật Fc lên sự tích tụ myostatin ở khỉ *in vivo*

Ở khỉ xynomolgus, sự cung cấp kháng thể không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) đã dẫn đến ít nhất 60 lần tăng cường về nồng độ myostatin từ vạch chuẩn vào

ngày 28. Vào ngày 28, các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO06-SG1012 và MS1032LO06-SG1033 đã dẫn đến 3 lần và 8 lần tăng cường từ vạch chuẩn tương ứng. Sự loại bỏ nhanh chóng được góp phần chủ yếu bởi sự tăng cường về ái lực với Fc gama RIIb khỉ xynomolgus. Vào ngày 28, các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031 và MS1032LO06-SG1034 có thể quét kháng nguyên đến dưới vạch chuẩn. Lý do cho sự loại bỏ nhanh chóng MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031 và MS1032LO06-SG1034 là sự tăng cường về sự hấp thu không đặc trưng trong tế bào do tăng cường về cụm điện tích dương của kháng thể và sự tăng cường về sự hấp thu tế bào trung gian Fc gama R do việc gắn kết được tăng cường với Fc gama R.

Sự cung cấp các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081 và MS1032LO19-SG1077 được giảm nồng độ myostatin đến giới hạn dò tìm dưới đây (<0,25ng/mL) từ ngày 1 ở khỉ xynomolgus. Vào ngày 14, nồng độ của myostatin đã tăng cường trên giới hạn dò tìm đối với MS1032LO19-SG1079 và MS1032LO19-SG1071 trong khi nồng độ của myostatin còn lại dưới giới hạn dò tìm đối với MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081 và MS1032LO19-SG1077. Sự ức chế yếu hơn của MS1032LO19-SG1079 và MS1032LO19-SG1071 có thể là do sự khác biệt ở các đột biến pI.

Dữ liệu đề xuất rằng sự loại bỏ nhanh chóng myostatin ra khỏi huyết tương có thể đã đạt được bằng các đột biến mà tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIb hoặc kết hợp các đột biến mà tăng cường điện tích dương của kháng thể và tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIb. Nó được mong đợi rằng sự quét mạnh của myostatin có thể đã đạt được ở người bằng cách kết hợp các đột biến mà tăng cường điện tích dương của kháng thể và tăng cường việc gắn kết với Fc gama R.

Ví dụ 25

Hiệu quả *in vivo* của các biến thể được tối ưu hóa hơn nữa trên chuột

Như được mô tả trong Ví dụ 8, hiệu quả *in vivo* được đánh giá trong chuột Scid bằng cách sử dụng MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, và MS1032LO25-SG1. Ba nghiên cứu độc lập đã được thực hiện và MS1032LO01 được sử dụng làm đối chứng.

Các kết quả của các thử nghiệm này được thể hiện trên các Fig. 20A-20I. Tất cả các kháng thể (MS1032LO06-SG1, MS1032LO11-SG1, MS1032LO18-SG1, MS1032LO19-SG1, và MS1032LO25-SG1) đều cho thấy sự gia tăng khối lượng cơ nạc (LBM) cũng như cải thiện lực nắm theo liều dùng. Các kháng thể cũng cho thấy sự giảm khối lượng mỡ trong cơ thể phụ theo liều dùng.

Ví dụ 26

Sự sắp xếp epitop của các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn

Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn người bổ sung được phát sinh đối với sự sắp xếp của các epitop gắn kết tương ứng của chúng. Hai thỏ NZW được gây miễn dịch và được thu hoạch như được mô tả trong Ví dụ 2. 1760 kháng thể sản xuất các dòng tế bào B được đồng nhất được sàng lọc tiếp đối với khả năng của chúng để chặn sự hoạt hóa được trung gian BMP1 của myostatin tiềm ẩn người. Tóm lại, tế bào dịch nổi B chứa các kháng thể tuần hoàn được ủ với myostatin tiềm ẩn người với sự có mặt của BMP1 người tái tổ hợp (R&D Systems) ở 37 °C qua đêm. 50 micro L của hỗn hợp phản ứng sau đó được di chuyển đến đĩa 96 giếng Meso Scale Discovery MULTI-ARRAY được phủ với kháng thể RK35 kháng myostain trưởng thành (như được mô tả ở WO 2009/058346). Sau khi ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng với việc lắc, các đĩa được ủ với kháng thể RK22 kháng myostatin trưởng thành được biotin hóa (như được mô tả ở WO 2009/058346) tiếp theo bằng streptavidin được đánh dấu SULFO. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) sau đó được bổ sung cho đĩa và tín hiệu ECL được phát hiện bằng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery). Các dòng 94 thể hiện các mức độ khác nhau của các hoạt tính làm trung hòa được chọn cho sự phân tích xuôi dòng (MST1495-MST1588). Các vùng biến đổi của các dòng được chọn này được nhân

dòng như được mô tả trong Ví dụ 2, trừ vectơ biểu hiện với trình tự F1332m vùng ổn định chuỗi nặng (SEQ ID NO: 193) được sử dụng.

Hoạt tính ức chế trên sự hoạt hóa myostatin tiềm ẩn người còn được đánh giá đối với pa nen A của 7 kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (MST1032, MST1504, MST1538, MST1551, MST1558, MST1572, và MST1573; các sự nhận dạng trình tự đối với các trình tự axit amin của các kháng thể này được thể hiện ở Bảng 13). Như được thể hiện ở Fig. 21, tất cả các kháng thể có khả năng ức chế sự hoạt hóa thông qua BMP1 của myostatin tiềm ẩn người theo liều dùng.

Bảng 13

Các trình tự axit amin của các kháng thể myostatin kháng tiềm ẩn

Kháng thể	SEQ ID NO							
	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
MST1032	12	14	55	58	61	65	70	73
MST1504	145	151	157	163	169	175	181	187
MST1538	146	152	158	164	170	176	182	188
MST1551	147	153	159	165	171	177	183	189
MST1558	148	154	160	166	172	178	184	190
MST1572	149	155	161	167	173	179	185	191
MST1573	150	156	162	168	174	180	186	192

Bốn kháng thể trong giếng làm việc trong phương pháp lai thấm protein được chọn để lập bản đồ epitop. Các phần của propeptit đầu N mã hóa vùng myostatin tiềm ẩn người được tách dòng trong vectơ pGEX4,1 cũng để sản xuất các phần propeptit được đánh dấu GST là 100 axit amin mỗi thành viên, với 80 axit amin chồng lắp (Fig. 22A). Sự biểu hiện protein được gây ra trong các tế bào cạnh tranh BL21 được biến đổi với Hệ thống tự cảm ứng biểu hiện qua đêm (Merck Millipore) và protein được chiết sử dụng chất phản ứng chiết protein BugBuster (Novagen). Sự biểu hiện của các phần protein được mong đợi ở khoảng 37kDa được xác định bằng sự phân tích phương pháp lai thấm protein như được mô tả trong Ví dụ 6 (kháng thể kháng GST (Abcam)) (Fig. 22B). Khi được thử nghiệm với các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn người,

như được thể hiện ở Fig. 22C, mặc dù tất cả 4 kháng thể có thể ức chế sự hoạt hóa myostatin tiềm ẩn, chúng đã chấp nhận các epitop khác trên myostatin tiềm ẩn người. Kháng thể MST1032 có thể dò năm phần thứ nhất, không nhóm nào được phát hiện sau khi loại bỏ axit amin 81-100 (SEQ ID NO:78). Cả các kháng thể MST1538 và MST1572 gắn kết với chỉ ba các phần thứ nhất, không nhóm nào được phát hiện khi vắng mặt axit amin 41-60 nêu trong SEQ ID NO:78. Kháng thể MST1573 chỉ được gắn kết mạnh với hai phần thứ nhất, gợi ý rằng epitop của nó nằm trong axit amin 21-40 nêu trong SEQ ID NO:78 (Fig. 22D).

Ví dụ 27

Sự phát triển của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb mới Trong ví dụ này, kỹ thuật Fc để tăng cường sự đào thải myostatin được minh họa.

Đã từng được mô tả trong WO 2013/125667 rằng sự đào thải của kháng nguyên hòa tan có thể được tăng cường bằng sự cung cấp các phân tử gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm miền Fc biểu lộ ái lực đã tăng cường đối với Fc gama RIIb. Hơn thế nữa, các biến thể Fc có thể thể hiện việc gắn kết được tăng cường với Fc gama RIIb người đã từng được minh họa trong WO 2012/115241 và WO 2014/030728. Cũng đã từng được minh họa rằng các biến thể Fc này có thể thể hiện việc gắn kết tuyển chọn được tăng cường với Fc gama RIIb người và được gắn kết giảm với các Fc gama R hoạt hóa khác. Sự tăng cường tuyển chọn này của sự gắn kết Fc gama RIIb có thể là tuyệt vời không những đối với sự đào thải của kháng nguyên hòa tan mà còn để làm giảm rủi ro của các chức năng và đáp ứng miễn dịch phản ứng không được mong đợi.

Đối với sự phát triển của một thuốc, hiệu quả, dược động học, và sự an toàn kháng thể nên được đánh giá trong các động vật không phải người trong đó thuốc là hoạt tính dược lý. Nếu nó chỉ hoạt động ở người, các phương pháp thay thế như việc sử dụng kháng thể thay thế phải được tính đến (Int. J. Tox. 28: 230-253 (2009)). Tuy nhiên, sẽ không dễ dàng để dự đoán chính xác các hiệu quả của sự tương tác giữa vùng Fc và các Fc gama R ở người sử dụng kháng thể thay thế, do sự biểu hiện các mẫu và/hoặc các chức năng của các Fc gama R trong các động vật không phải người là không thường

giống nhau như ở người. Sẽ thích hợp là các vùng Fc của các thuốc kháng thể nên có độ phản ứng chéo với các động vật không phải người, cụ thể là với khỉ xynomolgus mà là gần với sự biểu hiện các mẫu và các chức năng của các Fc gama R với người, để các kết quả đã thu được ở các động vật không phải người có thể được suy luận ở người.

Do đó các biến thể Fc biểu lộ độ phản ứng chéo với các xynoFc gama R và Fc gama R người được phát triển trong nghiên cứu này.

Đo ái lực của biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb đang tồn tại kháng các Fc gama R người và khỉ

Gen chuỗi nặng của biến thể được tăng cường Fc gama RIIb người (ở đây, "Fc gama RIIb được tăng cường" có nghĩa là "với hoạt tính gắn kết Fc gama RIIb được tăng cường ") được bộc lộ trong WO 2012/115241 được phát sinh bằng cách thay thế Pro tại vị trí 238 theo hệ đánh số EU với Asp trong chuỗi nặng của MS1032LO06-SG1 mà được đặt tên là M103205H795-SG1 (VH, SEQ ID NO: 86; CH, SEQ ID NO: 9). Chuỗi nặng tạo ra được đề cập đến như M103205H795-MY009 (VH, SEQ ID NO: 86; CH, SEQ ID NO: 252). Như kháng thể chuỗi nhẹ, M103202L889-SK1 (VL, SEQ ID NO: 96; CL, SEQ ID NO: 10) được sử dụng. Kháng thể tái tổ hợp được biểu hiện theo phương pháp được thể hiện ở Ví dụ 34.

Các miền ngoại bào của các Fc gama R được điều chế theo cách sau. Sự tổng hợp của các gen đối với miền ngoại bào của các Fc gama R người được thực hiện theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật dựa vào thông tin đã được đăng ký trong NCBI. Cụ thể là, Fc gama RIIa dựa vào trình tự của sự bổ sung NCBI # NM_001136219,1, Fc gama RIIb là trên NM_004001,3, Fc gama RIIIa là trên NM_001127593,1, tương ứng. Các kiểu quyết định kháng nguyên của Fc gama RIIa và Fc gama RIIIa được điều chế theo các báo cáo về hiện tượng nhiều dạng đối với Fc gama RIIa (J. Exp. Med. 172:19-25 (1990)) và đối với Fc gama RIIIa (J. Clin. Invest. 100(5):1059-1070 (1997)), tương ứng. Sự tổng hợp của gen đối với miền ngoại bào của các Fc gama R khỉ xynomolgus được dựng bằng cách tnhân dòng cADN của mỗi các Fc gama R từ khỉ xynomolgus sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các trình tự axit amin của các miền ngoại bào được dựng của các Fc gama R được thể hiện theo danh mục

trình tự: (SEQ ID NO 210 đối với Fc gama RIIaR người, SEQ ID NO 211 đối với Fc gama RIIaH người, SEQ ID NO 214 đối với Fc gama RIIb người, SEQ ID NO 217 đối với Fc gama RIIIaF người, SEQ ID NO 218 đối với Fc gama RIIIaV người, SEQ ID NO 220 đối với xyno Fc gama RIIa1, SEQ ID NO 221 đối với xyno Fc gama RIIa2, SEQ ID NO 222 đối với xyno Fc gama RIIa3, SEQ ID NO 223 đối với xyno Fc gama RIIb, SEQ ID NO 224 đối với xyno Fc gama RIIIaS). Sau đó, His-tag được bổ sung cho đầu C của chúng và mỗi gen đã thu được được chèn vào trong vectơ biểu hiện được thiết kế cho sự biểu hiện tế bào động vật có vú. Vectơ biểu hiện được đưa vào trong các tế bào FreeStyle293 có nguồn gốc từ tế bào thận thai người (Invitrogen) để biểu hiện protein đích. Sau khi cấy, dịch nổi cấy thu được được lọc và được tinh chế bằng bốn bước cơ bản sau. Sắc ký trao đổi cation sử dụng SP Sepharose FF được thực hiện như bước thứ nhất, sắc ký ái lực chống lại His-tag (HisTrap HP) như bước thứ hai sắc ký cột lọc gel (Superdex200) như bước thứ ba, và lọc vô trùng như bước thứ tư. Khả năng hút ở 280 nm của các protein được tinh chế được đo sử dụng máy đo ảnh phổ và nồng độ của protein được tinh chế được xác định sử dụng hệ số tiêu hủy được tính toán bằng phương pháp của PACE (Protein Science 4:2411-2423 (1995)).

Sự phân tích động lực của các sự tương tác giữa các kháng thể này và Fc gama R được thực hiện sử dụng BIACORE T200 (nhãn hiệu được đăng ký) hoặc BIACORE 4000 (GE Healthcare) (nhãn hiệu được đăng ký). HBS-EP+ (GE Healthcare) được sử dụng như đệm trượt, và sự đo nhiệt độ được thực hiện ở 25 °C. Vi mạch được sản xuất bởi việc làm bất động protein A, protein A/G hoặc chuỗi nhẹ kapa IgG người kháng chuột (BD Biosciences) trên vi mạch cảm biến CM4 hoặc CM5 chuỗi S (GE Healthcare) bởi phương pháp ghép nối amin được sử dụng. Kháng thể liên quan được bắt trên vi mạch này để tương tác với mỗi Fc gama R đã từng được pha loãng với đệm trượt, và việc gắn kết với kháng thể được đo. Sau khi đo, kháng thể được bắt trên vi mạch được rửa sạch bằng cách cho phản ứng với 10 mM glyxin-HCl, pH1,5 và 25 mM NaOH để vi mạch được phục hồi và được sử dụng nhiều lần. Các cảm biến sensorgram đã thu được như các kết quả đo được phân tích bằng kiểu gắn kết Langmuir 1:1 sử dụng Phần mềm đánh giá BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) để tính toán hằng số tốc độ gắn kết ka (L/mol/s) và hằng số tốc độ phân ly kd (1/s), và hằng số phân ly KD (mol/L) được tính toán từ các giá trị này. Do sự gắn kết của MS1032LO06-MY009 với

Fc gama RIIaH người, Fc gama RIIIaV người, và XynoFc gama RIIIaS là yếu, các thông số động lực như KD có thể không được tính toán từ phương pháp phân tích nêu trên. Đề cập đến các sự tương tác này, các giá trị KD được tính toán sử dụng kiểu gắn kết 1:1 sau được mô tả ở BIACORE T100 (nhãn hiệu được đăng ký) Phần mềm Handbook BR1006-48 Phiên bản AE.

Hoạt động tương tác các phân tử theo kiểu gắn kết 1:1 trên BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) có thể được mô tả bằng Phương trình 1: Req =C x R max/(KD+C)+RI, trong đó, Req là biểu đồ các mức gắn kết trạng thái sẵn sàng với chất đang được phân tích nồng độ, C là nồng độ, RI là vật đóng góp chỉ số khúc xạ kích thước trong mẫu, và Rmax là chất đang được phân tích khả năng gắn kết của bề mặt. Khi phương trình này được sắp xếp lại, KD có thể được biểu hiện như Phương trình 2: KD=C x Rmax/(Req-RI)-C. KD có thể được tính toán bằng cách thay thế các giá trị của Rmax, RI, và C trong Phương trình 1 hoặc Phương trình 2. Từ các điều kiện đo hiện tại, RI=0, C=2 micro mol/L có thể được sử dụng. Hơn thế nữa, giá trị Rmax đã thu được khi điều chỉnh tổng thể cảm biến sensorgram đã thu được kết quả là của việc phân tích sự tương tác của mỗi Fc gama R với IgG1 sử dụng kiểu gắn kết Langmuir 1:1 được phân chia bởi số lượng của SG1 được bắt, và được tăng lên gấp bội bởi số lượng của MY009 được bắt, và giá trị đạt được được sử dụng như Rmax. Việc tính toán này dựa vào giả thuyết rằng số lượng giới hạn của mỗi Fc gama R mà có thể được gắn kết bởi SG1 còn lại không thay đổi đối với tất cả các biến thể được sản xuất bằng cách đưa vào các đột biến trong SG1, và Rmax ở thời điểm đo cân xứng với số lượng của kháng thể được gắn kết trên vi mạch ở thời điểm đo. Req được xác định như số lượng của gắn kết của mỗi Fc gama R với mỗi biến thể trên vi mạch cảm biến được quan sát ở thời điểm đo.

Bảng 14 thể hiện kết quả của sự phân tích động lực của SG1 và MY009 kháng các xynoFc gama R và Fc gama R người. Các giá trị KD trong các tế bào được lấp đầy chất màu xám được tính toán sử dụng [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để được xác định chính xác bằng sự phân tích động lực. Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R.

Như được thể hiện ở Bảng 14, biến thể MY009 được tăng cường Fc gama RIIb người không thể hiện việc gắn kết được tăng cường với xynoFc gama RIIb nhưng thể

hiện việc gắn kết được tăng cường với Fc gama RIIb người. Ái lực của nó với xynoFc gama RIIb phần nào được giảm bởi 0,4-lần so với SG1, chỉ ra rằng biến thể MY009 được tăng cường Fc gama RIIb người không có độ phản ứng chéo với các xynoFc gama R.

Sự phát triển của biến thể Fc mới mà thể hiện việc gắn kết được tăng cường với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người.

Lý tưởng là, biến thể Fc mới nên có việc gắn kết được tăng cường với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người tuyển chọn và việc gắn kết được giảm với các Fc gama R hoạt hóa khác. Tuy nhiên, do Fc giả định gắn kết các gốc trong xynoFc gama RIIb là hoàn toàn giống như hoặc kiểu quyết định kháng nguyên của xynoFc gama RIIa (Fig. 23), nó không thể xảy ra được về mặt lý thuyết để đạt được tuyển chọn sự tăng cường của xynoFc gama RIIb gắn kết trên xynoFc gama RIIa. Do đó biến thể Fc mới nên có việc gắn kết tuyển chọn được tăng cường với Fc gama RIIb người, xynoFc gama RIIb và xynoFc gama RIIa.

Để thu được biến thể Fc mới mà thể hiện việc gắn kết tuyển chọn được tăng cường với cả xyno Fc gama RIIb và Fc gama RIIb người, các kết quả của nghiên cứu quy trình đột biến toàn diện được thực hiện trong WO 2012/115241 được sử dụng. Trong nghiên cứu quy trình đột biến toàn diện, tất cả các đột biến được đưa vào trong mọi vị trí trong các vùng gắn kết Fc gama R trong các kháng thể IgG1 và việc gắn kết với mỗi Fc gama R được phân tích toàn diện như được thể hiện ở các quy trình dưới đây.

Bảng 14

Độ phản ứng chéo của biến thể được tăng cường Fc gama RIIb người với các xynoFc gama R

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Thay thế	FcgR IIa1	FcgR IIa2	FcgR IIa3	FcgR IIb	FcgR IIIaS	FcgR IIaH	FcgR IIaR	FcgR IIb	FcgR IIIaV	Fcg RII a1	Fcg RII a2	Fcg RII a3	Fcg RII b	FcgRII IaS	FcgR IIaH	Fcg RII aR	Fcg RII b	FcgRII IaV
M1 03205H795-SG1	-	4,2E-06	5,2E-06	1,5E-05	1,7E-06	4,2E-07	9,3E-07	1,4E-06	4,7E-06	1,2E-06	1,0	1,0	1,0	1,0	1,000	1,00	1,0	1,0	1,000
M1 03205H795-MY009	P238D	2,5E-05	2,6E-05	3,1E-05	4,3E-06	1,0E-04	7,5E-05	2,0E-05	1,4E-06	5,8E-04	0,2	0,2	0,5	0,4	0,004	0,01	0,1	3,3	0,002

Vùng biến đổi của kháng thể glypican 3 bao gồm CDR của GpH 7 mà là kháng thể kháng glypican 3 với động lực học huyết tương được cải thiện được bộc lộ trong WO 2009/041062 được sử dụng như vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể (GpH 7: SEQ ID NO: 225). Tương tự, đối với chuỗi nhẹ kháng thể, GpL16-k0 (SEQ ID NO: 226) của kháng thể glypican 3 với động lực học huyết tương được cải thiện được bộc lộ trong WO 2009/041062 được sử dụng. Hơn thế nữa, B3 (SEQ ID NO: 228) trong đó sự đột biến K439E đã từng được đưa vào trong G1d (SEQ ID NO: 227) được sản xuất bằng cách loại bỏ Gly và Lys đầu C của IgG1 được sử dụng như vùng ổn định chuỗi kháng thể H. Chuỗi nặng này, mà đã từng được tạo ra bởi việc nấu chảy GpH 7 và B3, được đề cập đến như GpH 7-B3 (VH, SEQ ID NO: 225; CH, SEQ ID NO: 228).

Về GpH 7-B3, các gốc axit amin được coi là cần được bao gồm trong Fc gama R gắn kết và các gốc axit amin xung quanh (các vị trí 234 đến 239, 265 đến 271, 295, 296, 298, 300, và 324 đến 337, theo hệ đánh số EU) được thế tương ứng với 18 gốc axit amin loại trừ gốc axit amin gốc và Cys. Các biến thể Fc này được đề cập đến như các biến thể B3. Các biến thể B3 được biểu hiện và sự gắn kết của các kháng thể được tinh chế protein A với mỗi Fc gama R (Fc gama RIIa kiểu H, Fc gama RIIa kiểu R, Fc gama RIIb, và Fc gama RIIIaF) được đánh giá toàn diện như sau. Sự phân tích về tương tác giữa mỗi kháng thể đã biến đổi và thụ thể Fc gama được điều chế như được đề cập trên đây được thực hiện sử dụng BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) T100 (GE Healthcare), BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) T200 (GE Healthcare), BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) A100, hoặc BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) 4000. HBS-EP+ (GE Healthcare) được sử dụng như đệm trượt, và sự đo nhiệt độ được cài đặt đến 25 °C. Các vi mạch được sản xuất bởi việc làm bất động Protein A (Thermo Scientific), Protein A/G (Thermo Scientific), hoặc Protein L (ACTIGEN hoặc BioVision) bằng phương pháp nối amin đến vi mạch cảm biến CM5 hoặc CM4 chuỗi S (GE Healthcare) được sử dụng. Sau khi bắt giữ các kháng thể liên quan trên các vi mạch cảm biến này, thụ thể Fc gama được pha loãng với đệm trượt được cho tương tác, số lượng được gắn kết với

kháng thể được đo. Tuy nhiên, do số lượng của thụ thể Fc gama được gắn kết tùy thuộc vào số lượng của các kháng thể được bắt, số lượng của thụ thể Fc gama được gắn kết được phân chia bởi số lượng của mỗi kháng thể được bắt để thu được các giá trị chính xác, và các giá trị này được so sánh. Hơn thế nữa, các kháng thể được bắt trên các vi mạch được rửa bằng 10 mM glyxin-HCl, pH1,5, và các vi mạch được phục hồi và được sử dụng lặp đi lặp lại nhiều lần. Giá trị của số lượng của Fc gama R gắn kết của mỗi biến thể B3 được phân chia bằng giá trị của số lượng của Fc gama R gắn kết của kháng thể B3 thể mẹ (kháng thể có trình tự của IgG1 xuất hiện trong tự nhiên người tại các vị trí 234 đến 239, 265 đến 271, 295, 296, 298, 300, và 324 đến 337, theo hệ đánh số EU). Giá trị đã thu được bằng cách làm tăng gấp bội giá trị này bởi 100 được sử dụng như một chất chỉ thị của hoạt tính gắn kết Fc gama R tương đối của mỗi biến thể.

Bảng 15 thể hiện hồ sơ gắn kết của các sự thay thế triển vọng được chọn dựa vào tiêu chuẩn sau (cao hơn 40% đến Fc gama RIIb người, thấp hơn 100% đến Fc gama RIIaR người và Fc gama RIIaH, nhỏ hơn 10 % đến Fc gama RIIIaF người, so với chúng của kháng thể B3 thể mẹ).

Bảng 15

Hồ sơ gắn kết của các thay thế được chọn kháng các Fc gama R người

Sự đột biến	Gắn kết với các FcgR người (thể mẹ B3=100)			
	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
G236N	54	81	75	8
G237Y	77	4	85	0
G237D	74	0	95	0
P238E	21	2	97	1
P238Y	93	9	114	3
P238M	86	9	97	2
P238Q	19	4	43	-1
S239P	49	4	61	-1
V266F	91	8	88	2

Sự đột biến	Gắn kết với các FcgR người (thể mẹ B3=100)			
	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
S267H	27	3	42	1
S267L	63	3	112	2
N325L	93	13	116	0
N325E	49	13	40	4
N325I	76	8	97	1
N325F	65	6	72	-1
A327I	37	12	46	8

Trong bước tiếp theo, độ phản ứng chéo của các sự thay thế này với các xynoFc gama R được đánh giá. 16 đột biến này được đưa vào trong M103205H795-SG1. Các biến thể được biểu hiện sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với xynoFc gama RIIa1, IIa2, IIa3, IIb, III như được phân tích.

Bảng 16 thể hiện hồ sơ gắn kết của 16 biến thể với các xynoFc gama R. Giá trị của số lượng của Fc gama R gắn kết đã thu được bằng cách tách số lượng của Fc gama R được gắn kết bởi số lượng của mỗi kháng thể được bắt. Giá trị này được bình thường hóa tiếp sử dụng giá trị đối với SG1 như 100.

Bảng 16

Hồ sơ gắn kết của các thay thế được chọn đối với các xynoFc gama R

		Gắn kết với các xynoFcgR (SG1 = 100)				
Tên CH	Sự thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS
SG1		100	100	100	100	100
MY001	G236N	83	86	62	85	15
SG165	G237Y	18	17	30	30	7
SG166	G237D	10	10	17	8	5
SG167	P238Y	18	14	38	22	14
SG168	P238E	21	16	30	28	13

		Gắn kết với các xynoFcgR (SG1 = 100)				
Tên CH	Sự thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS
SG169	P238M	17	16	32	22	22
SG170	P238Q	16	15	21	18	12
SG171	S239P	17	20	18	20	8
SG172	V266F	14	17	27	16	31
SG173	S267L	13	14	21	12	24
SG174	S267H	13	16	20	11	15
SG175	N325F	13	13	17	14	8
SG176	N325I	14	15	19	16	20
SG177	N325L	15	15	25	18	21
SG178	N325E	22	21	29	26	36
SG179	A327I	19	17	28	19	48

Trong số 16 biến thể Fc được chọn, chỉ MY001 được duy trì việc gắn kết với xynoFc gama RIIb bởi 85% so với SG1. Ngoài ra MY001 đã thể hiện việc gắn kết giảm với xynoFc gama RIIIaS và việc gắn kết của nó với xynoFc gama RIIa1, IIa2, và IIa3 được duy trì. Kết quả là, sự đột biến G236N là sự thay thế duy nhất mà thể hiện hồ sơ gắn kết tương tự với cả các xynoFc gama R và Fc gama R người.

Mặc dù sự thay thế G236N thể hiện độ phản ứng chéo với cả các xyno Fc gama R và Fc gama R người, ái lực của nó với Fc gama RIIb là thấp hơn SG1 (75% đối với Fc gama RIIb người và 85% đối với xynoFc gama RIIb, tương ứng). Để tăng cường ái lực của nó với Fc gama RIIb, các sự thay thế bổ sung được đánh giá. Cụ thể là, các sự thay thế mà đã thể hiện việc gắn kết được tăng cường với Fc gama RIIb người, việc gắn kết giảm với Fc gama RIIIa người và độ chọn lọc được tăng cường với Fc gama RIIb người trên Fc gama RIIa người được chọn dựa vào kết quả của nghiên cứu quy trình đột biến toàn diện (Bảng 17).

Bảng 17.

Hồ sơ gắn kết của các thay thế được chọn bổ sung đối với các Fc gama R người

	Gắn kết với các FcgR người (thể mẹ B3=100)			
Đột biến	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
L234W	64	63	90	36
L234Y	38	50	55	63
L235W	136	128	130	40
G236D	109	91	212	25
G236A	165	168	94	65
G236E	142	131	117	33
G236S	147	161	87	33
S239N	99	80	124	111
S239I	82	75	108	47
S239V	79	71	107	48
S267A	176	125	283	145
H268D	173	142	307	220
H268E	169	132	283	205
P271G	152	130	252	93
P271D	94	55	110	85
P271E	90	51	105	87
Q295L	128	148	156	135
S298L	99	71	114	51
K236T	138	127	195	164
A237N	95	48	123	32
L238T	156	135	179	53
A330R	116	123	92	73
A330K	121	127	96	86
P311E	96	67	100	46
I332D	129	139	198	235
K334I	169	137	174	187

	Gắn kết với các FcgR người (thể mẹ B3=100)			
Đột biến	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
K334V	172	132	184	176
K334Y	157	131	160	188
K334M	151	127	148	183
K334D	97	72	108	155

Trong số các sự thay thế này, L234W và L234Y được chọn để tăng cường độ chọn lọc với Fc gama RIIb người trên Fc gama RIIa người. Và G236A, G236S, A330R, A330K và P331E được chọn để làm giảm việc gắn kết với Fc gama RIIIa người. Mọi sự thay thế được chọn khác để tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIb người. Độ phản ứng chéo của các sự thay thế được chọn với các xynoFc gama R được đánh giá. Ngoài ra, ba sự thay thế, P396M, V264I, và E233D cũng được đánh giá. Các sự thay thế được đưa vào trong M103205H795-SG1 và các biến thể được biểu hiện sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ.

Bảng 18 thể hiện sự phân tích động lực của các sự thay thế được chọn bao gồm G236N kháng cả các xynoFc gama R và Fc gama R người. Cụ thể là, các sự thay thế được đưa vào trong M103205H795-SG1. Các biến thể được biểu hiện sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với xynoFc gama RIIa1, IIa2, IIa3, IIb, III như được phân tích.

Các giá trị KD trong các tế bào được lấp đầy chất màu xám được tính toán sử dụng [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để được xác định chính xác bởi sự phân tích động lực. Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R.

G236N đã thể hiện ái lực gắn kết tương đương với xynoFc gama RIIa1, xynoFc gama RIIa2, xynoFc gama RIIa3, và xynoFc gama RIIb với SG1. Mặc dù ái lực với Fc gama RIIb người được giảm đến 0,6-lần, các ái lực với Fc gama RIIaH người và Fc gama RIIaR người được giảm đến 0,2-lần và 0,1-lần, tương ứng, biểu thị rằng sự thay thế này có độ chọn lọc cao với Fc gama RIIb người trên Fc gama

RIIa người. Hơn thế nữa, các ái lực của nó với xynoFc gama RIIIaS và Fc gama RIIIaV người là 0,03-lần và 0,04-lần, tương ứng, mà là thuận tiện để bài tiết ADCC hoạt tính. Dựa vào kết quả này, G236N đã thể hiện độ phản ứng chéo lý tưởng nhất với các xynoFc gama R và Fc gama R người mặc dù ái lực của nó với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người nên được tăng cường.

Trong số các sự thay thế bổ sung được đánh giá, S298L, G236A, P331E, E233D, K334Y, K334M, L235W, S239V, K334I, L234W, K328T, Q295L, K334V, K326T, P396M, I332D, H268E, P271G, S267A và H268D đã thể hiện việc gắn kết đã tăng cường với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người. Cụ thể là, H268D đã thể hiện hiệu quả lớn nhất (7-lần đối với Fc gama RIIb người và 5,3-lần đối với xynoFc gama RIIb). Về ảnh hưởng của sự giảm bớt trong gắn kết Fc gama RIIIa, G236S, A330K, và G236D đã thể hiện ái lực nhỏ hơn 0,5-lần so với SG1.

Để tăng cường ái lực với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người của MY001, các sự kết hợp của các sự thay thế được liệt kê ở Bảng 18 được đánh giá. Cụ thể là, các sự thay thế được đưa vào trong M103205H795-SG1. Các biến thể được biểu hiện sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng được phân tích. Bảng 19 thể hiện kết quả của sự phân tích động lực kháng các xynoFc gama R và Fc gama R người. Các giá trị KD trong các tế bào được lấp đầy chất màu xám được tính toán sử dụng [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để được xác định chính xác bằng sự phân tích động lực. Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R.

Bảng 18

Phân tích động lực của các biến thể kháng các xynoFc gama R và Fc gama R người

Tên chuỗi nặng	Thay thế	KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
		FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY016	E233D	2,9E-06	3,4E-06	3,2E-06	1,7E-06	2,3E-07	8,5E-07	9,4E-07	2,9E-06	3,7E-07	1,1	1,5	5,3	1,1	1,57	0,8	1,2	1,6	2,19
M103205H795-MY006	L234W	2,0E-06	1,9E-06	3,6E-06	9,2E-07	3,2E-07	1,3E-06	1,8E-06	2,3E-06	7,3E-07	1,6	2,7	4,7	2,0	1,13	0,5	0,6	2,0	1,11
M103205H795-MY013	L234Y	4,5E-06	4,7E-06	5,2E-05	2,0E-06	3,3E-07	2,6E-06	5,1E-06	3,7E-06	4,1E-07	0,7	1,1	0,3	0,9	1,09	0,3	0,2	1,2	1,98
M103205H795-MY070	L235W	2,3E-06	2,8E-06	4,7E-06	1,2E-06	4,9E-07	5,0E-07	7,4E-07	2,6E-06	7,0E-07	1,4	1,8	3,6	1,5	0,73	1,4	1,5	1,8	1,16
M103205H795-MY001	G236N	2,9E-06	3,6E-06	1,5E-05	1,8E-06	1,2E-05	3,2E-06	8,2E-06	7,7E-06	1,8E-05	1,1	1,4	1,1	1,0	0,03	0,2	0,1	0,6	0,04
M103205H795-MY061	G236D	6,5E-06	6,8E-06	1,8E-05	4,2E-06	3,4E-06	1,4E-06	1,3E-06	2,5E-06	3,0E-06	0,5	0,8	0,9	0,4	0,11	0,5	0,8	1,8	0,27
M103205H795-MY071	G236E	5,0E-06	3,7E-06	9,2E-06	2,5E-06	2,8E-07	4,0E-07	4,5E-07	3,1E-06	5,1E-07	0,6	1,4	1,8	0,7	1,29	1,7	2,4	1,5	1,59
M103205H795-MY074	G236A	2,0E-06	2,3E-06	6,2E-06	1,1E-06	2,7E-07	9,2E-08	2,1E-07	3,6E-06	5,6E-07	1,6	2,2	2,7	1,6	1,33	7,5	5,2	1,3	1,45
M103205H795-MY124	G236S	2,6E-06	3,1E-06	1,2E-05	2,2E-06	1,3E-06	1,4E-07	5,2E-07	9,2E-06	5,2E-06	1,2	1,6	1,4	0,8	0,28	4,9	2,1	0,5	0,16
M103205H795-MY008	S239V	4,2E-06	3,7E-06	2,4E-05	1,7E-06	3,7E-07	1,6E-06	1,8E-06	2,6E-06	6,3E-07	0,8	1,4	0,7	1,1	0,97	0,4	0,6	1,8	1,29
M103205H795-MY037	S239N	3,8E-06	4,5E-06	9,6E-06	2,4E-06	2,0E-07	1,1E-06	9,1E-07	2,6E-06	3,7E-07	0,8	1,1	1,8	0,8	1,80	0,6	1,2	1,8	2,19
M103205H795-MY038	S239I	3,9E-06	4,5E-06	1,1E-05	1,9E-06	3,1E-07	1,2E-06	1,5E-06	2,6E-06	5,5E-07	0,8	1,1	1,5	0,9	1,16	0,6	0,7	1,8	1,47
M103205H795-MY010	V264I	3,5E-06	5,0E-06	1,6E-05	2,0E-06	2,2E-07	1,2E-06	1,8E-06	5,1E-06	2,2E-07	0,9	1,0	1,1	0,9	1,64	0,6	0,6	0,9	3,68
M103205H795-MY011	S267A	2,3E-06	2,8E-06	9,9E-06	1,0E-06	1,5E-07	4,9E-07	1,7E-07	6,6E-07	3,4E-07	1,4	1,8	1,7	1,8	2,40	1,4	6,5	7,0	2,38

M103205H795-MY017	H268E	2,7E-06	2,9E-06	5,5E-06	6,8E-07	9,8E-08	4,5E-07	2,8E-07	9,4E-07	1,4E-07	1,2	1,8	3,1	2,6	3,67	1,5	3,9	4,9	5,79
M103205H795-MY063	H268D	1,4E-06	1,5E-06	2,0E-06	3,4E-07	6,7E-08	2,7E-07	2,1E-07	6,6E-07	1,6E-07	2,3	3,4	8,5	5,3	5,37	2,6	5,2	7,0	5,06
M103205H795-MY012	P271G	2,1E-06	2,3E-06	7,9E-06	1,1E-06	2,0E-07	4,4E-07	2,3E-07	9,0E-07	4,8E-07	1,5	2,2	2,2	1,6	1,80	1,6	4,8	5,1	1,69
M103205H795-MY040	P271D	5,5E-06	1,1E-05	4,4E-06	3,5E-06	3,7E-07	1,8E-06	1,2E-06	3,0E-06	6,1E-07	0,6	0,5	3,9	0,5	0,97	0,4	0,9	1,5	1,33
M103205H795-MY041	P271E	4,0E-06	4,1E-06	7,4E-06	3,5E-06	2,6E-07	1,8E-06	1,2E-06	3,1E-06	4,8E-07	0,8	1,2	2,3	0,5	1,38	0,4	0,9	1,5	1,69
M103205H795-MY073	Q295L	1,2E-06	1,3E-06	5,1E-06	6,7E-07	1,7E-07	2,4E-07	5,0E-07	2,0E-06	3,4E-07	2,7	3,9	3,3	2,7	2,12	2,9	2,2	2,3	2,38
M103205H795-MY042	S298L	5,1E-07	3,1E-06	8,0E-06	1,6E-06	4,4E-07	1,0E-06	9,8E-07	4,0E-06	5,3E-07	6,3	1,6	2,1	1,1	0,82	0,7	1,1	1,2	1,53
M103205H795-MY069	K326T	1,6E-06	1,6E-06	6,5E-06	7,3E-07	8,6E-08	4,4E-07	3,9E-07	1,6E-06	2,4E-07	2,0	3,2	2,6	2,5	4,19	1,6	2,8	2,9	3,38
M103205H795-MY043	A327N	5,8E-06	6,1E-05	1,8E-05	4,4E-06	8,4E-07	2,9E-06	1,5E-06	3,0E-06	1,2E-06	0,6	0,1	0,9	0,4	0,43	0,2	0,7	1,5	0,68
M103205H795-MY068	L328T	2,1E-06	2,7E-06	5,7E-06	1,0E-06	5,8E-07	3,7E-07	5,2E-07	2,1E-06	1,4E-06	1,5	1,9	3,0	1,8	0,62	1,9	2,1	2,2	0,58
M103205H795-MY014	A330R	2,5E-06	2,5E-06	1,2E-05	1,5E-06	4,0E-07	5,2E-07	9,6E-07	4,8E-06	6,9E-07	1,3	2,0	1,4	1,2	0,90	1,3	1,1	1,0	1,17
M103205H795-MY196	A330K	2,5E-06	3,0E-06	2,3E-05	2,4E-06	6,0E-07	4,8E-07	1,3E-06	6,2E-06	2,2E-06	1,3	1,7	0,7	0,8	0,60	1,4	0,8	0,7	0,37
M103205H795-MY044	P331E	3,2E-06	3,5E-06	5,2E-05	1,6E-06	4,7E-07	1,2E-06	9,2E-07	3,3E-06	9,0E-07	1,0	1,5	0,3	1,1	0,77	0,6	1,2	1,4	0,90
M103205H795-MY072	I332D	1,0E-06	1,2E-06	2,6E-06	4,8E-07	5,3E-08	2,5E-07	4,8E-07	1,5E-06	1,2E-07	3,2	4,3	6,5	3,8	6,79	2,8	2,3	3,1	6,75
M103205H795-MY045	K334D	5,7E-06	4,0E-06	6,8E-06	2,2E-06	1,4E-07	1,6E-06	1,6E-06	2,9E-06	2,4E-07	0,6	1,3	2,5	0,8	2,57	0,4	0,7	1,6	3,38
M103205H795-MY064	K334I	2,4E-06	2,6E-06	6,9E-06	1,1E-06	1,2E-07	5,0E-07	6,8E-07	2,4E-06	2,2E-07	1,3	2,0	2,5	1,6	3,00	1,4	1,6	1,9	3,68
M103205H795-MY065	K334V	2,3E-06	2,8E-06	4,2E-06	1,3E-06	1,1E-07	5,2E-07	5,1E-07	1,9E-06	2,3E-07	1,4	1,8	4,0	1,4	3,27	1,3	2,2	2,4	3,52
M103205H795-MY066	K334Y	2,1E-06	2,6E-06	6,7E-06	1,4E-06	1,6E-07	6,4E-07	9,7E-07	2,8E-06	2,9E-07	1,5	2,0	2,5	1,3	2,25	1,1	1,1	1,6	2,79
M103205H795-MY067	K334M	2,1E-06	2,3E-06	6,7E-06	1,1E-06	1,0E-07	5,3E-07	7,6E-07	2,8E-06	2,0E-07	1,5	2,2	2,5	1,6	3,60	1,3	1,4	1,6	4,05
M103205H795-MY015	P396M	1,3E-06	1,5E-06	4,7E-06	6,0E-07	1,0E-07	3,3E-07	3,2E-07	1,6E-06	2,4E-07	2,5	3,4	3,6	3,0	3,60	2,1	3,4	2,9	3,38

Bảng 19

Phân tích động lực của các biến thể được bao gồm của G236N và các thay thế bổ sung

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
		FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H7 95-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H7 95-MY001	G236N	2,9E-06	3,6E-06	1,5E-05	1,8E-06	1,2E-05	3,2E-06	8,2E-06	7,7E-06	1,8E-05	1,1	1,4	1,1	1,0	0,03	0,2	0,1	0,6	0,04
M103205H7 95-MY047	G236N/P271G	4,8E-06	3,4E-06	2,4E-05	2,6E-06	7,6E-06	2,8E-06	3,8E-06	3,7E-06	7,7E-06	0,7	1,5	0,7	0,7	0,05	0,2	0,3	1,2	0,11
M103205H7 95-MY048	G236N/P396M	1,4E-06	1,7E-06	7,0E-06	9,1E-07	5,4E-06	1,1E-06	3,1E-06	3,3E-06	1,2E-05	2,3	3,0	2,4	2,0	0,07	0,6	0,4	1,4	0,07
M103205H7 95-MY049	G236N/H268E	2,7E-06	2,3E-06	6,6E-06	8,5E-07	4,6E-06	1,8E-06	7,8E-06	1,5E-06	7,8E-06	1,2	2,2	2,6	2,1	0,08	0,4	0,1	3,1	0,10
M103205H7 95-MY050	G236N/S267A/H268E	4,3E-06	4,2E-06	1,9E-05	1,4E-06	1,7E-06	2,1E-06	1,5E-06	7,5E-07	3,3E-06	0,7	1,2	0,9	1,3	0,21	0,3	0,7	6,1	0,25
M103205H7 95-MY051	G236N/H268E/P271G	4,6E-06	4,8E-06	1,8E-05	1,9E-06	2,1E-06	2,2E-06	2,8E-06	2,0E-06	7,4E-06	0,7	1,1	0,9	0,9	0,17	0,3	0,4	2,3	0,11
M103205H7 95-MY052	G236N/H268E/P396M	1,4E-06	1,5E-06	3,9E-06	4,6E-07	1,5E-06	8,3E-07	1,4E-06	7,2E-07	4,6E-06	2,3	3,4	4,4	3,9	0,24	0,8	0,8	6,4	0,18
M103205H7 95-MY101	G236N/H268E/A330K/P396M	1,1E-06	1,2E-06	3,6E-06	3,5E-07	3,2E-06	4,9E-07	8,7E-07	4,9E-07	1,1E-05	2,9	4,3	4,7	5,1	0,11	1,4	1,3	9,4	0,07
M103205H7 95-MY103	G236N/H268E/A330R/P396M	1,4E-06	1,3E-06	3,6E-06	3,8E-07	2,6E-06	4,1E-07	1,2E-06	7,2E-07	4,5E-06	2,3	3,9	4,7	4,7	0,14	1,7	0,9	6,4	0,18
M103205H7 95-MY105	G236N/S239V/H268E/P396M	1,2E-06	9,0E-07	1,3E-06	3,9E-07	1,3E-06	1,5E-06	1,4E-06	5,7E-07	5,9E-06	2,7	5,7	13,1	4,6	0,28	0,5	0,8	8,1	0,14
M103205H7 95-MY107	G236N/S239V/H268E/A330R/P396M	9,0E-07	7,3E-07	1,2E-06	3,0E-07	2,2E-06	9,5E-07	1,4E-06	5,0E-07	5,8E-06	3,6	7,0	14,2	6,0	0,16	0,7	0,8	9,2	0,14

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
		FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H7 95-MY109	G236N/S239V/H268E/A330K/ P396M	8,7E-07	7,1E-07	1,2E-06	2,8E-07	2,0E-06	9,4E-07	1,3E-06	5,5E-07	4,2E-06	3,7	7,2	14,2	6,4	0,18	0,7	0,8	8,4	0,19
M103205H7 95-MY111	L234W/G236N/H268E/A330K/ P396M	1,7E-06	1,8E-06	4,2E-06	5,5E-07	2,3E-06	4,7E-07	2,0E-06	1,1E-06	3,1E-06	1,9	2,8	4,0	3,3	0,16	1,5	0,6	4,2	0,26
M103205H7 95-MY113	L234W/G236N/H268E/A330R/ P396M	1,6E-06	1,7E-06	4,0E-06	5,0E-07	2,0E-06	1,3E-06	1,8E-06	9,8E-07	3,7E-06	2,0	3,0	4,3	3,6	0,18	0,5	0,6	4,7	0,22
M103205H7 95-MY115	G236N/S267A/H268E/P396M	2,3E-06	2,7E-06	7,6E-06	7,8E-07	8,5E-07	9,6E-07	6,4E-07	3,2E-07	3,6E-06	1,4	1,9	2,2	2,3	0,42	0,7	1,7	14,4	0,22
M103205H7 95-MY117	L234W/G236N/S267A/H268E/ P396M	2,6E-06	3,2E-06	9,9E-06	1,0E-06	1,0E-06	2,2E-06	1,0E-06	6,0E-07	7,9E-06	1,2	1,6	1,7	1,8	0,36	0,3	1,1	7,7	0,10
M103205H7 95-MY141	G236N/S267A/P396M	2,2E-06	2,8E-06	2,0E-05	1,8E-06	4,7E-06	1,2E-06	1,6E-06	1,1E-06	1,2E-05	1,5	1,8	0,9	1,0	0,08	0,6	0,7	4,2	0,07
M103205H7 95-MY144	G236N/ H268D/P396M	8,9E-07	8,9E-07	3,8E-06	4,4E-07	2,3E-06	6,5E-07	1,3E-06	7,4E-07	7,7E-06	3,6	5,7	4,5	4,1	0,16	1,1	0,8	6,2	0,11
M103205H7 95-MY145	G236N/H268E/P331E/P396M	1,9E-06	2,4E-06	1,0E-05	9,8E-07	3,6E-06	1,8E-06	2,3E-06	1,2E-06	9,1E-06	1,7	2,1	1,7	1,8	0,10	0,4	0,5	3,8	0,09
M103205H7 95-MY146	G236N/H268E/S298L/P396M	1,7E-07	1,8E-06	4,8E-06	8,5E-07	3,1E-06	2,2E-06	2,1E-06	8,9E-07	8,8E-06	18,8	2,8	3,5	2,1	0,12	0,3	0,5	5,2	0,09
M103205H7 95-MY147	L235W/G236N/H268E/P396M	2,2E-06	2,2E-06	6,6E-06	9,6E-07	5,5E-06	1,2E-06	1,1E-06	8,3E-07	1,1E-05	1,5	2,3	2,6	1,9	0,07	0,6	1,0	5,5	0,07
M103205H7 95-MY197	G236N/H268D/A330K/P396M	5,8E-07	5,6E-07	1,4E-06	1,7E-07	2,1E-06	3,6E-07	7,1E-07	3,9E-07	1,0E-05	5,5	9,1	12,1	10,6	0,17	1,9	1,5	11,8	0,08
M103205H7 95-MY198	G236N/S239V/H268D/A330K/ P396M	4,4E-07	3,3E-07	1,4E-06	2,4E-07	2,7E-06	5,8E-07	8,0E-07	4,2E-07	6,9E-06	7,3	15,5	12,1	7,5	0,13	1,2	1,4	11,0	0,12
M103205H7 95-MY199	G236N/H268E/A330K	1,9E-06	2,0E-06	1,2E-05	1,1E-06	4,1E-06	1,1E-06	2,8E-06	1,9E-06	1,3E-05	1,7	2,6	1,4	1,6	0,09	0,6	0,4	2,4	0,06

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
		FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY200	G236N/S239V/H268E/A330K	1,7E-06	1,5E-06	5,0E-06	1,1E-06	4,4E-06	1,7E-06	2,7E-06	1,4E-06	1,5E-05	1,9	3,4	3,4	1,6	0,08	0,4	0,4	3,3	0,05
M103205H795-MY201	G236N/H268D/A330K	1,4E-06	1,4E-06	3,9E-06	4,3E-07	5,7E-06	9,1E-07	1,9E-06	1,1E-06	2,4E-05	2,3	3,6	4,4	4,2	0,06	0,8	0,6	4,2	0,03
M103205H795-MY202	G236N/S239V/H268D/A330K	8,6E-07	6,4E-07	2,2E-06	4,6E-07	4,0E-06	1,2E-06	1,2E-06	7,1E-07	9,4E-06	3,7	8,0	7,7	3,9	0,09	0,6	0,9	6,5	0,09
M103205H795-MY204	G236N/S239V/H268E/Q295L/A330K	1,3E-06	1,4E-06	5,2E-06	8,1E-07	3,5E-06	1,3E-06	2,8E-06	1,3E-06	1,1E-05	2,5	3,6	3,3	2,2	0,10	0,5	0,4	3,5	0,07
M103205H795-MY205	G236N/H268D/Q295L/A330K	9,0E-07	1,1E-06	3,0E-06	2,5E-07	6,0E-06	4,7E-07	1,3E-06	5,6E-07	1,3E-05	3,6	4,6	5,7	7,2	0,06	1,5	0,8	8,2	0,06
M103205H795-MY206	G236N/S239V/H268D/Q295L/A330K	8,1E-07	7,9E-07	3,0E-06	4,5E-07	3,3E-06	1,0E-06	1,4E-06	9,0E-07	8,2E-06	4,0	6,5	5,7	4,0	0,11	0,7	0,8	5,1	0,10
M103205H795-MY207	G236N/ H268D	1,5E-06	1,4E-06	6,9E-06	8,2E-07	4,1E-06	1,3E-06	2,8E-06	1,6E-06	8,0E-06	2,1	3,6	2,5	2,2	0,09	0,5	0,4	2,9	0,10
M103205H795-MY208	G236N/H268D/Q295L	1,2E-06	1,5E-06	6,7E-06	6,4E-07	2,8E-06	8,3E-07	2,1E-06	1,1E-06	1,0E-05	2,7	3,4	2,5	2,8	0,13	0,8	0,5	4,2	0,08
M103205H795-MY209	G236N/H268D/Q295L/K326T/A330K	6,3E-07	6,9E-07	1,9E-06	1,9E-07	2,2E-06	5,7E-07	8,8E-07	5,0E-07	1,4E-05	5,1	7,4	8,9	9,5	0,16	1,2	1,3	9,2	0,06
M103205H795-MY210	G236N/H268D/K326T/A330K	9,5E-07	8,4E-07	2,3E-06	2,8E-07	2,4E-06	8,8E-07	1,4E-06	9,8E-07	3,1E-05	3,4	6,1	7,4	6,4	0,15	0,8	0,8	4,7	0,03
M103205H795-MY211	G236N/S239V/H268D/K326T/A330K	7,5E-07	5,8E-07	2,7E-06	4,7E-07	3,0E-06	1,1E-06	1,3E-06	8,2E-07	4,8E-06	4,3	8,8	6,3	3,8	0,12	0,6	0,8	5,6	0,17
M103205H795-MY212	G236N/S239V/H268D/Q295L/K326T/A330K	5,6E-07	5,3E-07	2,9E-06	3,7E-07	2,6E-06	8,0E-07	1,3E-06	6,3E-07	6,5E-06	5,7	9,6	5,9	4,9	0,14	0,9	0,8	7,3	0,12

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
		FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY288	G236N/ Q295L	1,5E-06	2,0E-06	1,1E-05	1,2E-06	1,3E-05	1,4E-06	8,5E-06	5,1E-06	6,8E-05	2,1	2,6	1,5	1,5	0,03	0,5	0,1	0,9	0,01
M103205H795-MY289	G236N/ A330K/P396M	1,3E-06	1,5E-06	8,6E-06	7,4E-07	5,2E-06	8,3E-07	3,5E-06	2,9E-06	7,7E-06	2,5	3,4	2,0	2,4	0,07	0,8	0,3	1,6	0,11
M103205H795-MY350	L235W/G236N/ H268E/A330K/P396M	2,1E-06	2,2E-06	4,7E-06	6,1E-07	6,6E-06	9,6E-07	9,0E-07	6,7E-07	1,2E-05	1,5	2,3	3,6	3,0	0,05	0,7	1,2	6,9	0,07
M103205H795-MY434	L235W/G236N/ H268D/ A330K	2,9E-06	2,4E-06	6,4E-06	7,4E-07	1,1E-05	1,6E-06	1,9E-06	1,4E-06	1,6E-05	1,1	2,1	2,7	2,4	0,03	0,4	0,6	3,3	0,05
M103205H795-MY440	L235W/G236N/ H268D/Q295L/A330K	1,6E-06	1,8E-06	4,8E-06	4,6E-07	9,3E-06	9,1E-07	1,1E-06	8,0E-07	2,7E-05	2,0	2,8	3,5	3,9	0,04	0,8	1,0	5,8	0,03
M103205H795-MY518	L235W/G236N/ H268D/Q295L/K326T/ A330K	8,9E-07	9,0E-07	2,4E-06	2,6E-07	4,2E-06	8,5E-07	6,7E-07	4,8E-07	2,3E-05	3,6	5,7	7,1	6,9	0,09	0,8	1,6	9,6	0,04

Tất cả các biến thể được ngăn ngừa ái lực với Fc gama RIIIaV người thấp hơn 0,26-lần và với xynoFc gama RIIIaS bởi thấp hơn 0,42-lần so với SG1. Hơn nữa, tất cả các biến thể trừ MY047, MY051, và MY141 đã thể hiện thành công việc gắn kết được tăng cường với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người so với MY001 và gắn kết Fc gama RIIa người của chúng được giữ ở mức thấp hơn 2-lần so với SG1. Trong số chúng, MY201, MY210, MY206, MY144, MY103, MY212, MY105, MY205, MY109, MY107, MY209, MY101, MY518, MY198 và MY197 đã thể hiện gắn kết được tăng cường cả với kháng thể xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người cao hơn 4-lần so với SG1. Trên hết, MY205, MY209, MY198, và MY197 đã thể hiện việc gắn kết được tăng cường với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người gắn kết cao hơn 7-lần.

Như được minh họa trong WO2014030728 đối với các sự thay thế tại vị trí 396 trong miền CH3 được tăng cường ái lực với Fc gama RIIb người. Quá trình đột biến tổng thể được đưa vào vị trí 396 của M103205H795-MY052, mà chứa các sự thay thế G236N/H268E/P396M. Các biến thể tạo ra được biểu hiện sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá (Bảng 20). Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R.

Trong số các sự thay thế được thử nghiệm, sự gắn kết Fc gama RIIb người được duy trì P396I, P396K, và P396L cao hơn 5-lần so với SG1 mà chỉ có sự thay thế P396L được tăng cường ái lực với Fc gama RIIb người khi so với MY052. Về việc gắn kết với xynoFc gama RIIb, MY052 thể mẹ đã thể hiện ái lực cao nhất là tăng 3,9-lần so với SG1.

Do G236N có độ phản ứng chéo lý tưởng với kháng thể các xynoFc gama R và Fc gama R người, nên các sự thay thế khác trên vị trí 236 không được đánh giá. Cụ thể là, Asn trong M103205H795-MY201 được thế với Met, His, Val, Gln, Leu, Thr và Ile. Các biến thể tạo ra được biểu hiện bằng cách sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá (Bảng 21). Giá trị KD trong các tế bào được tô màu xám được tính theo [Phương trình 2] do ái lực quá yếu để có thể xác định được chính xác bằng phân tích động học. Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R.

Bảng 20.

Phân tích động lực của các biến thể P396 có nguồn gốc từ MY052

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY052	G236N/H268E /P396M	1,4E-06	1,5E-06	3,9E-06	4,6E-07	1,5E-06	8,3E-07	1,4 E-06	7,2E-07	1,5E-06	2,3	3,4	4,4	3,9	0,24	0,8	0,8	6,4	0,54
M103205H795-MY168	G236N/H268E /P396A	2,2E-06	2,5E-06	1,0E-05	1,2E-06	4,5E-06	1,6E-06	2,8 E-06	1,7E-06	8,1E-06	1,5	2,0	1,7	1,5	0,08	0,4	0,4	2,7	0,10
M103205H795-MY169	G236N/H268E /P396D	2,3E-06	2,3E-06	9,9E-06	1,0E-06	3,5E-06	1,2E-06	2,5 E-06	1,3E-06	6,2E-06	1,4	2,2	1,7	1,8	0,10	0,6	0,4	3,5	0,13
M103205H795-MY170	G236N/H268E /P396E	2,3E-06	2,4E-06	1,2E-05	1,2E-06	2,9E-06	1,7E-06	2,5E-06	1,6E-06	6,3E-06	1,4	2,1	1,4	1,5	0,12	0,4	0,4	2,9	0,13
M103205H795-MY171	G236N/H268E /P396F	2,3E-06	2,3E-06	9,2E-06	9,8E-07	3,3E-06	1,2E-06	2,1E-06	1,2E-06	5,9E-06	1,4	2,2	1,8	1,8	0,11	0,6	0,5	3,8	0,14
M103205H795-MY172	G236N/H268E /P396G	2,7E-06	2,8E-06	1,1E-05	1,2E-06	3,3E-06	1,7E-06	3,1E-06	1,8E-06	6,5E-06	1,2	1,8	1,5	1,5	0,11	0,4	0,4	2,6	0,12
M103205H795-MY173	G236N/H268E /P396H	1,7E-06	1,8E-06	8,0E-06	7,8E-07	3,1E-06	1,0E-06	1,9E-06	1,0E-06	7,0E-06	1,9	2,8	2,1	2,3	0,12	0,7	0,6	4,6	0,12
M103205H795-MY174	G236N/H268E /P396I	1,5E-06	1,6E-06	6,4E-06	6,5E-07	2,5E-06	8,1E-07	1,4E-06	8,5E-07	6,8E-06	2,1	3,2	2,7	2,8	0,14	0,9	0,8	5,4	0,12
M103205H795-MY175	G236N/H268E /P396K	1,4E-06	1,5E-06	7,5E-06	7,1E-07	2,6E-06	8,6E-07	1,5E-06	8,3E-07	7,6E-06	2,3	3,4	2,3	2,5	0,14	0,8	0,7	5,5	0,11
M103205H795-MY176	G236N/H268E /P396L	1,3E-06	1,4E-06	6,0E-06	6,1E-07	2,2E-06	7,0E-07	1,3E-06	7,0E-07	6,2E-06	2,5	3,6	2,8	3,0	0,16	1,0	0,8	6,6	0,13
M103205H795-MY177	G236N/H268E /P396N	1,9E-06	1,8E-06	8,1E-06	8,3E-07	2,9E-06	1,0E-06	2,0E-06	1,1E-06	6,2E-06	1,7	2,8	2,1	2,2	0,12	0,7	0,6	4,2	0,13
M103205H795-MY178	G236N/H268E /P396Q	2,0E-06	2,1E-06	8,7E-06	9,5E-07	3,0E-06	1,2E-06	2,3E-06	1,3E-06	4,5E-06	1,6	2,4	2,0	1,9	0,12	0,6	0,5	3,5	0,18
MS103205H795-MY179	G236N/H268E /P396R	1,9E-06	2,0E-06	7,9E-06	9,8E-07	2,7E-06	1,1E-06	2,1E-06	1,2E-06	5,9E-06	1,7	2,6	2,2	1,8	0,13	0,6	0,5	3,8	0,14
M103205H795-MY180	G236N/H268E /P396S	2,6E-06	2,7E-06	1,2E-05	1,3E-06	3,1E-06	1,7E-06	3,0E-06	1,9E-06	5,9E-06	1,2	1,9	1,4	1,4	0,12	0,4	0,4	2,4	0,14
MS103205H795-MY181	G236N/H268E /P396T	2,3E-06	2,3E-06	9,2E-06	1,0E-06	4,1E-06	1,3E-06	2,5E-06	1,4E-06	7,3E-06	1,4	2,2	1,8	1,8	0,09	0,5	0,4	3,3	0,11
M103205H795-MY182	G236N/H268E /P396V	2,1E-06	2,2E-06	7,8E-06	9,6E-07	3,6E-06	1,3E-06	2,1E-06	1,2E-06	7,0E-06	1,5	2,3	2,2	1,9	0,10	0,5	0,5	3,8	0,12
M103205H795-MY183	G236N/H268E /P396W	2,1E-06	2,0E-06	8,4E-06	9,7E-07	3,5E-06	1,2E-06	2,1E-06	1,1E-06	7,2E-06	1,5	2,6	2,0	1,9	0,10	0,6	0,5	4,2	0,11
M103205H795-MY184	G236N/H268E /P396Y	1,9E-06	2,0E-06	8,4E-06	9,0E-07	3,3E-06	1,1E-06	2,0E-06	1,1E-06	6,8E-06	1,7	2,6	2,0	2,0	0,11	0,6	0,6	4,2	0,12

49038

267/723

Bảng 21

Phân tích động lực của các biến thể G236 có nguồn gốc từ MY201

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa 1	FcgRIIa 2	FcgRIIa 3	FcgRIIb	FcgRIIIa S	FcgRIIa H	FcgRIIa R	FcgRIIb	FcgRIIIa V	Fcg RIIa 1	Fcg RIIa 2	Fcg RIIa 3	Fcg RIIb	Fcg RIII aS	FcgRII aH	Fcg RIIa R	Fcg RIIb	FcgRII IaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY201	G236N/H268D/A330K	1,4E-06	1,4E-06	3,9E-06	4,3E-07	5,7E-06	9,1E-07	1,9E-06	1,1E-06	2,4E-05	2,3	3,6	4,4	4,2	0,06	0,8	0,6	4,2	0,03
M103205H795-MY260	G236M/H268D/A330K	4,5E-06	3,7E-06	1,4E-05	1,6E-06	6,5E-07	9,1E-07	1,8E-06	6,1E-06	3,0E-06	0,7	1,4	1,2	1,1	0,55	0,8	0,6	0,8	0,27
M103205H795-MY261	G236H/H268D/A330K	3,7E-06	4,0E-06	5,5E-06	1,5E-06	2,4E-06	2,4E-07	1,1E-06	5,3E-06	1,1E-05	0,9	1,3	3,1	1,2	0,15	2,9	1,0	0,9	0,07
M103205H795-MY262	G236V/H268D/A330K	1,9E-06	1,7E-06	8,0E-06	5,6E-07	2,8E-06	1,4E-07	7,1E-07	6,0E-06	5,0E-06	1,7	3,0	2,1	3,2	0,13	4,9	1,5	0,8	0,16
M103205H795-MY263	G236Q/H268D/A330K	3,2E-06	3,0E-06	7,3E-06	1,0E-06	7,8E-07	3,2E-07	7,1E-07	3,5E-06	2,3E-06	1,0	1,7	2,3	1,8	0,46	2,2	1,5	1,3	0,35
M103205H795-MY264	G236L/H268D/A330K	5,6E-06	5,5E-06	1,6E-05	2,6E-06	3,7E-06	1,5E-06	2,3E-06	1,2E-05	6,4E-05	0,6	0,9	1,1	0,7	0,10	0,5	0,5	0,4	0,01
M103205H795-MY265	G236T/H268D/A330K	2,2E-06	1,9E-06	4,8E-06	5,9E-07	2,0E-06	2,1E-07	4,4E-07	2,2E-06	5,4E-06	1,5	2,7	3,5	3,1	0,18	3,3	2,5	2,1	0,15
M103205H795-MY267	G236I/H268D/A330K	2,4E-06	2,0E-06	7,3E-06	8,4E-07	2,7E-06	2,0E-07	7,1E-07	5,7E-06	1,5E-05	1,3	2,6	2,3	2,1	0,13	3,5	1,5	0,8	0,05

Bảng 22

Phân tích động lực của các biến thể có nguồn gốc từ MY265

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
M103205H795-MY265	G236T/H268D/A330K	2,2E-06	1,9E-06	4,8E-06	5,9E-07	2,0E-06	2,1E-07	4,4E-07	2,2E-06	5,4E-06	1,5	2,7	3,5	3,1	0,2	3,3	2,5	2,1	0,2
M103205H795-MY459	A231D/G236T/H268D/A330K	5,0E-06	4,7E-06	7,5E-06	1,1E-06	3,2E-06	3,9E-07	5,6E-07	2,5E-06	8,7E-06	0,6	1,1	2,3	1,6	0,1	1,8	2,0	1,8	0,1
M103205H795-MY460	A231E/G236T/H268D/A330K	3,1E-06	3,1E-06	5,5E-06	7,9E-07	2,7E-06	2,6E-07	5,5E-07	2,4E-06	6,7E-06	1,0	1,6	3,1	2,3	0,1	2,7	2,0	1,9	0,1
M103205H795-MY461	A231F/G236T/H268D/A330K	1,8E-06	1,8E-06	3,5E-06	4,7E-07	2,1E-06	1,8E-07	3,4E-07	1,7E-06	5,4E-06	1,8	2,8	4,9	3,8	0,2	3,8	3,2	2,7	0,2
M103205H795-MY462	A231G/G236T/H268D/A330K	1,9E-06	1,6E-06	4,2E-06	4,7E-07	1,8E-06	2,4E-07	4,9E-07	1,9E-06	5,4E-06	1,7	3,2	4,0	3,8	0,2	2,9	2,2	2,4	0,2
M103205H795-MY463	A231H/G236T/H268D/A330K	2,1E-06	1,8E-06	4,4E-06	5,8E-07	1,6E-06	2,2E-07	5,1E-07	2,3E-06	4,8E-06	1,5	2,8	3,9	3,1	0,2	3,1	2,2	2,0	0,2
M103205H795-MY464	A231I/G236T/H268D/A330K	1,9E-06	1,5E-06	3,9E-06	5,0E-07	1,7E-06	1,7E-07	2,6E-07	1,6E-06	4,4E-06	1,7	3,4	4,4	3,6	0,2	4,1	4,2	2,9	0,2
M103205H795-MY465	A231K/G236T/H268D/A330K	2,0E-06	2,8E-06	5,2E-06	6,3E-07	1,9E-06	2,5E-07	6,0E-07	2,8E-06	5,5E-06	1,6	1,8	3,3	2,9	0,2	2,8	1,8	1,6	0,1
M103205H795-MY466	A231L/G236T/H268D/A330K	1,9E-06	1,8E-06	4,4E-06	5,1E-07	1,8E-06	1,7E-07	2,6E-07	1,4E-06	4,3E-06	1,7	2,8	3,9	3,5	0,2	4,1	4,2	3,3	0,2
M103205H795-MY467	A231M/G236T/H268D/A330K	1,9E-06	1,9E-06	4,7E-06	5,1E-07	1,7E-06	1,8E-07	3,6E-07	2,0E-06	4,8E-06	1,7	2,7	3,6	3,5	0,2	3,8	3,1	2,3	0,2
M103205H795-MY468	A231N/G236T/H268D/A330K	2,8E-06	2,5E-06	5,2E-06	6,5E-07	2,3E-06	2,8E-07	4,7E-07	2,6E-06	6,8E-06	1,1	2,0	3,3	2,8	0,2	2,5	2,3	1,8	0,1
M103205H795-MY469	A231P/G236T/H268D/A330K	2,2E-06	2,1E-06	4,9E-06	6,1E-07	2,2E-06	2,0E-07	4,3E-07	2,4E-06	5,9E-06	1,5	2,4	3,5	3,0	0,2	3,5	2,6	1,9	0,1
M103205H795-MY470	A231Q/G236T/H268D/A330K	2,2E-06	1,8E-06	4,9E-06	5,5E-07	1,7E-06	2,1E-07	4,7E-07	2,3E-06	5,1E-06	1,5	2,8	3,5	3,3	0,2	3,3	2,3	2,0	0,2
M103205H795-MY471	A231R/G236T/H268D/A330K	2,6E-06	2,1E-06	4,5E-06	7,0E-07	1,8E-06	2,3E-07	4,7E-07	2,8E-06	5,3E-06	1,2	2,4	3,8	2,6	0,2	3,0	2,3	1,6	0,2
M103205H795-MY472	A231S/G236T/H268D/A330K	2,4E-06	2,1E-06	5,1E-06	6,6E-07	2,3E-06	2,5E-07	4,9E-07	2,5E-06	6,2E-06	1,3	2,4	3,3	2,7	0,2	2,8	2,2	1,8	0,1
M103205H795-MY473	A231T/G236T/H268D/A330K	1,6E-06	2,6E-06	5,5E-06	5,8E-07	1,7E-06	2,2E-07	4,9E-07	2,2E-06	5,2E-06	2,0	2,0	3,1	3,1	0,2	3,1	2,2	2,1	0,2

M103205H795-MY474	A231V/G236T/H268D/A330K	2,0E-06	1,8E-06	4,8E-06	5,0E-07	1,6E-06	1,7E-07	3,4E-07	2,0E-06	4,6E-06	1,6	2,8	3,5	3,6	0,2	4,1	3,2	2,3	0,2
M103205H795-MY475	A231W/G236T/H268D/A330K	1,0E-06	1,0E-06	2,3E-06	2,7E-07	1,7E-06	9,0E-08	2,1E-07	1,1E-06	5,0E-06	3,2	5,1	7,4	6,7	0,2	7,7	5,2	4,2	0,2
M103205H795-MY476	A231Y/G236T/H268D/A330K	1,4E-06	1,3E-06	2,6E-06	3,9E-07	2,0E-06	1,4E-07	2,5E-07	1,2E-06	5,5E-06	2,3	3,9	6,5	4,6	0,2	4,9	4,4	3,8	0,1
M103205H795-MY441	P232A/G236T/H268D/A330K	3,9E-06	3,3E-06	8,0E-06	8,8E-07	2,6E-06	3,6E-07	6,0E-07	2,8E-06	8,1E-06	0,8	1,5	2,1	2,0	0,1	1,9	1,8	1,6	0,1
M103205H795-MY442	P232D/G236T/H268D/A330K	4,4E-06	4,2E-06	6,8E-06	1,1E-06	2,1E-06	4,6E-07	4,2E-07	1,8E-06	4,7E-06	0,7	1,2	2,5	1,6	0,2	1,5	2,6	2,6	0,2
M103205H795-MY443	P232E/G236T/H268D/A330K	4,8E-06	5,0E-06	8,8E-06	1,2E-06	2,6E-06	5,3E-07	6,4E-07	2,8E-06	5,9E-06	0,7	1,0	1,9	1,5	0,1	1,3	1,7	1,6	0,1
M103205H795-MY444	P232F/G236T/H268D/A330K	1,2E-06	1,1E-06	1,9E-06	3,0E-07	1,6E-06	1,1E-07	1,4E-07	7,4E-07	5,2E-06	2,7	4,6	8,9	6,0	0,2	6,3	7,9	6,2	0,2
M103205H795-MY445	P232G/G236T/H268D/A330K	5,6E-06	5,5E-06	1,4E-05	1,4E-06	3,5E-06	5,6E-07	1,1E-06	4,2E-06	9,5E-06	0,6	0,9	1,2	1,3	0,1	1,2	1,0	1,1	0,1
M103205H795-MY446	P232H/G236T/H268D/A330K	2,5E-06	2,2E-06	4,7E-06	6,3E-07	2,9E-06	2,6E-07	4,8E-07	2,4E-06	7,1E-06	1,3	2,3	3,6	2,9	0,1	2,7	2,3	1,9	0,1
M103205H795-MY447	P232I/G236T/H268D/A330K	9,9E-07	8,8E-07	1,5E-06	2,3E-07	1,1E-06	9,7E-08	9,8E-08	4,4E-07	4,0E-06	3,2	5,8	11,3	7,8	0,3	7,1	11,2	10,5	0,2
M103205H795-MY448	P232K/G236T/H268D/A330K	9,6E-06	7,5E-06	2,1E-05	2,3E-06	6,5E-06	9,3E-07	2,1E-06	8,4E-06	1,3E-05	0,3	0,7	0,8	0,8	0,1	0,7	0,5	0,5	0,1
M103205H795-MY449	P232L/G236T/H268D/A330K	8,7E-07	9,4E-07	1,5E-06	2,3E-07	1,0E-06	9,8E-08	7,4E-08	2,9E-07	3,7E-06	3,7	5,4	11,3	7,8	0,4	7,0	14,9	15,9	0,2
M103205H795-MY450	P232M/G236T/H268D/A330K	1,3E-06	1,1E-06	2,2E-06	2,8E-07	1,3E-06	1,3E-07	1,2E-07	4,7E-07	4,0E-06	2,5	4,6	7,7	6,4	0,3	5,3	9,2	9,8	0,2
M103205H795-MY451	P232N/G236T/H268D/A330K	3,6E-06	4,2E-06	6,7E-06	1,0E-06	2,7E-06	4,1E-07	6,4E-07	3,0E-06	7,1E-06	0,9	1,2	2,5	1,8	0,1	1,7	1,7	1,5	0,1
M103205H795-MY452	P232Q/G236T/H268D/A330K	3,4E-06	3,1E-06	6,5E-06	9,2E-07	2,8E-06	3,6E-07	6,2E-07	2,9E-06	6,1E-06	0,9	1,6	2,6	2,0	0,1	1,9	1,8	1,6	0,1
M103205H795-MY453	P232R/G236T/H268D/A330K	6,2E-06	9,9E-06	2,1E-05	2,1E-06	6,5E-06	7,5E-07	1,6E-06	6,5E-06	1,4E-05	0,5	0,5	0,8	0,9	0,1	0,9	0,7	0,7	0,1
M103205H795-MY454	P232S/G236T/H268D/A330K	3,8E-06	3,1E-06	7,6E-06	1,0E-06	2,8E-06	4,1E-07	7,6E-07	3,1E-06	5,9E-06	0,8	1,6	2,2	1,8	0,1	1,7	1,4	1,5	0,1
M103205H795-MY455	P232T/G236T/H268D/A330K	3,1E-06	2,9E-06	5,4E-06	9,2E-07	2,8E-06	3,1E-07	4,6E-07	2,2E-06	6,6E-06	1,0	1,8	3,1	2,0	0,1	2,2	2,4	2,1	0,1
M103205H795-MY456	P232V/G236T/H268D/A330K	1,9E-06	1,7E-06	3,4E-06	5,2E-07	2,0E-06	1,7E-07	2,9E-07	1,1E-06	5,3E-06	1,7	3,0	5,0	3,5	0,2	4,1	3,8	4,2	0,2
M103205H795-MY457	P232W/G236T/H268D/A330K	8,1E-07	8,4E-07	1,2E-06	2,0E-07	1,1E-06	1,2E-07	7,3E-08	3,3E-07	3,6E-06	4,0	6,1	14,2	9,0	0,3	5,8	15,1	13,9	0,2
M103205H795-MY458	P232Y/G236T/H268D/A330K	1,8E-06	1,6E-06	3,0E-06	4,3E-07	1,9E-06	1,6E-07	1,7E-07	9,9E-07	5,3E-06	1,8	3,2	5,7	4,2	0,2	4,3	6,5	4,6	0,2

Mặc dù tất cả các biến thể đều thể hiện ái lực giảm với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người khi so với MY201 thể mẹ, MY265, mà được sản xuất bằng cách thay thế Asn với Thr tại vị trí 236 của MY201, nhưng vẫn duy trì tăng cường gắn kết gấp 2,1-lần đối với Fc gama RIIb người và 3,1-lần đối với xynoFc gama RIIb, tương ứng so với SG1. MY265 cũng được duy trì việc gắn kết giảm với cả xynoFc gama RIIIa và Fc gama RIIIa người. Mặc dù ái lực với Fc gama RIIaH người và Fc gama RIIaR được tăng cường cao hơn 2,5-lần so với SG1, G236T là sự thay thế triển vọng thứ hai tại vị trí 236.

Để cải thiện độ chọn lọc và ái lực của MY265 với Fc gama RIIb người, nghiên cứu quy trình đột biến toàn diện trong vị trí 231 và 232 được thực hiện. Cụ thể là vị trí 231 và 232 của M103205H795-MY265 được thế với 18 gốc axit amin loại trừ axit amin gốc và Cys. Các biến thể tạo ra được biểu hiện bằng cách sử dụng M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá (Bảng 22). Các giá trị về số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với từng Fc gama R.

Về ái lực với Fc gama RIIb, sự bổ sung của A231T, A231M, A231V, A231G, A231F, A231I, A231L, A231, A231W, P232V, P232Y, P232F, P232M, P232I, P232W, P232L đã tăng cường việc gắn kết với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người so với MY265 thể mẹ. Toàn bộ trên đây, sự bổ sung của A231T và A231G được giảm gắn kết Fc gama RIIaR người so với MY265.

Sự kết hợp của các sự thay thế mà không được đánh giá trong các ví dụ ở trên được đánh giá. Các sự thay thế được thử nghiệm cho thấy triển vọng được đưa vào trong M103205H795-SG1 kết hợp. Các biến thể tạo ra được biểu hiện bằng cách sử dụng M103202L889-SK1 làm chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá. Bảng 23 thể hiện kết quả và các giá trị KD trong các tế bào được tô màu xám được tính theo [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để có thể xác định được chính xác bằng phân tích động học. Số lần KD được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 cho giá trị KD của biến thể với mỗi Fc gama R. Các giá trị đối với MY209 được chọn như các biến thể triển vọng trong Bảng 19 được thể hiện lại để so sánh.

Trong số các biến thể được thử nghiệm, chỉ MY213 cho thấy ái lực gắn kết với cả xynoFc gama RIIb và Fc gama RIIb người cao hơn so với MY209. Tuy nhiên, các ái lực của MY213 với Fc gama RIIaH người và Fc gama RIIaR người là cao hơn so với ái lực của MY209.

Bảng 23A

Phân tích động lực của các sự kết hợp khác

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY209	G236N/H268D/Q295L/K326T/A330K	6,3E-07	6,9E-07	1,9E-06	1,9E-07	2,2E-06	5,7E-07	8,8E-07	5,0E-07	1,4E-05	5,1	7,4	8,9	9,5	0,16	1,2	1,3	9,2	0,06
M103205H795-MY142	G236E/H268E/P396M	4,1E-06	4,9E-06	2,5E-05	1,8E-06	1,4E-07	1,9E-07	1,7E-07	9,5E-07	5,8E-07	0,8	1,0	0,7	1,0	2,57	3,6	6,5	4,8	1,40
M103205H795-MY143	G236S/H268E/P396M	1,1E-06	1,3E-06	2,9E-06	4,6E-07	2,8E-07	3,7E-08	8,3E-08	6,8E-07	1,6E-06	2,9	3,9	5,9	3,9	1,29	18,6	13,3	6,8	0,51
M103205H795-MY269	G236M/H268D/A330K/P396K	2,3E-06	2,6E-06	6,4E-06	6,5E-07	2,2E-07	2,5E-07	7,2E-07	2,1E-06	1,1E-06	1,4	2,0	2,7	2,8	1,64	2,8	1,5	2,2	0,74
M103205H795-MY270	G236H/H268D/A330K/P396K	1,8E-06	2,1E-06	2,6E-06	5,3E-07	1,1E-06	7,3E-08	3,7E-07	2,6E-06	3,7E-06	1,8	2,4	6,5	3,4	0,33	9,5	3,0	1,8	0,22
M103205H795-MY271	G236V/H268D/A330K/P396K	7,6E-07	7,0E-07	3,1E-06	1,9E-07	8,7E-07	4,4E-08	2,3E-07	2,1E-06	2,3E-06	4,2	7,3	5,5	9,5	0,41	15,7	4,8	2,2	0,35
M103205H795-MY272	G236Q/H268D/A330K/P396K	1,7E-06	1,9E-06	6,2E-06	4,3E-07	2,9E-07	9,2E-08	2,5E-07	1,2E-06	8,7E-07	1,9	2,7	2,7	4,2	1,24	7,5	4,4	3,8	0,93
M103205H795-MY273	G236L/H268D/A330K/P396K	3,7E-06	3,5E-06	1,1E-05	1,2E-06	1,7E-06	5,1E-07	1,0E-06	5,0E-06	9,7E-06	0,9	1,5	1,5	1,5	0,21	1,4	1,1	0,9	0,08
M103205H795-MY274	G236T/H268D/A330K/P396K	8,8E-07	8,0E-07	2,0E-06	2,3E-07	6,2E-07	8,1E-08	1,7E-07	9,5E-07	2,5E-06	3,6	6,4	8,5	7,8	0,58	8,5	6,5	4,8	0,32
M103205H795-MY276	G236I/H268D/A330K/P396K	1,1E-06	1,1E-06	4,5E-06	3,1E-07	1,2E-06	5,3E-08	2,5E-07	2,4E-06	5,7E-06	2,9	4,6	3,8	5,8	0,30	13,0	4,4	1,9	0,14

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY278	G236M/H268D/Q295L/A330K	3,0E-06	3,6E-06	1,0E-05	1,1E-06	7,4E-07	5,3E-07	1,5E-06	4,4E-06	3,4E-06	1,1	1,4	1,7	1,6	0,49	1,3	0,7	1,0	0,24
M103205H795-MY279	G236H/H268D/Q295L/A330K	2,8E-06	3,3E-06	4,7E-06	9,1E-07	2,4E-06	1,4E-07	7,2E-07	4,6E-06	7,0E-06	1,1	1,5	3,6	2,0	0,15	4,9	1,5	1,0	0,12
M103205H795-MY280	G236V/H268D/Q295L/A330K	1,0E-06	1,2E-06	4,6E-06	3,3E-07	1,8E-06	8,1E-08	4,5E-07	2,9E-06	4,4E-06	3,2	4,3	3,7	5,5	0,20	8,5	2,4	1,6	0,18
M103205H795-MY281	G236Q/H268D/Q295L/A330K	1,9E-06	2,5E-06	9,1E-06	6,2E-07	7,4E-07	1,3E-07	3,9E-07	1,8E-06	2,1E-06	1,7	2,0	1,9	2,9	0,49	5,3	2,8	2,6	0,39
M103205H795-MY285	G236I/H268D/Q295L/A330K	1,6E-06	1,7E-06	6,8E-06	5,8E-07	2,9E-06	1,1E-07	5,6E-07	3,9E-06	1,6E-05	2,0	3,0	2,5	3,1	0,12	6,3	2,0	1,2	0,05
M103205H795-MY213	G236N/H268D/A330K/P396K	5,3E-07	5,2E-07	1,3E-06	1,6E-07	1,9E-06	3,5E-07	6,9E-07	3,6E-07	1,1E-05	6,0	9,8	13,1	11,3	0,19	2,0	1,6	12,8	0,07
M103205H795-MY242	P238I/H268D/A330K/P396K	4,5E-06	4,2E-06	5,9E-06	1,1E-06	5,3E-07	8,2E-07	6,3E-07	1,9E-06	3,2E-06	0,7	1,2	2,9	1,6	0,68	0,8	1,7	2,4	0,25
M103205H795-MY219	G237Y/H268D/A330K	3,5E-06	4,0E-06	5,5E-06	1,3E-06	6,2E-06	2,8E-06	1,6E-07	3,4E-07	9,1E-05	0,9	1,3	3,1	1,4	0,06	0,2	6,9	13,5	0,01
M103205H795-MY227	G237Y/H268D/A330K/P396K	1,9E-06	2,5E-06	2,5E-06	5,1E-07	3,9E-06	1,3E-06	6,2E-08	1,3E-07	1,8E-05	1,7	2,0	6,8	3,5	0,09	0,5	17,7	35,4	0,04
M103205H795-MY228	G237Y/H268D/Q295L/A330K	3,0E-06	3,1E-06	3,6E-06	1,1E-06	9,7E-06	2,2E-06	1,6E-07	3,0E-07	1,4E-04	1,1	1,6	4,7	1,6	0,04	0,3	6,9	15,3	0,01
M103205H795-MY229	G237Y/H268D/Q295L/A330K/P396K	1,6E-06	2,2E-06	1,9E-06	4,7E-07	4,2E-06	9,8E-07	8,1E-08	1,5E-07	3,7E-05	2,0	2,3	8,9	3,8	0,09	0,7	13,6	30,7	0,02
M103205H795-MY292	G237Y/H268D/Q295L/A330K/P396M	1,5E-06	2,6E-06	2,2E-06	4,5E-07	4,0E-06	9,5E-07	7,6E-08	1,4E-07	2,8E-05	2,1	2,0	7,7	4,0	0,09	0,7	14,5	32,9	0,03
M103205H795-MY293	G237Y/H268E/Q295L/A330K/P396K	2,8E-06	3,3E-06	3,9E-06	8,6E-07	4,2E-06	1,3E-06	7,3E-08	1,5E-07	3,9E-05	1,1	1,5	4,4	2,1	0,09	0,5	15,1	30,7	0,02

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY308	G236T/H268E/A330K	3,3E-06	4,6E-06	1,1E-05	1,5E-06	2,3E-06	4,5E-07	8,6E-07	4,1E-06	8,8E-06	1,0	1,1	1,5	1,2	0,16	1,5	1,3	1,1	0,09
M103205H795-MY309	G236T/H268E/A330K/P396M	2,5E-06	2,5E-06	7,0E-06	7,1E-07	1,2E-06	1,4E-07	2,6E-07	1,6E-06	4,3E-06	1,3	2,0	2,4	2,5	0,30	4,9	4,2	2,9	0,19
M103205H795-MY310	G236T/H268E/K326T/A330K	3,0E-06	2,9E-06	7,2E-06	9,5E-07	1,8E-06	4,0E-07	5,5E-07	2,9E-06	6,9E-06	1,1	1,8	2,4	1,9	0,20	1,7	2,0	1,6	0,12
M103205H795-MY311	G236T/H268E/Q295L/A330K	2,3E-06	3,4E-06	8,6E-06	7,8E-07	2,4E-06	2,0E-07	4,5E-07	2,1E-06	7,1E-06	1,4	1,5	2,0	2,3	0,15	3,5	2,4	2,2	0,11
M103205H795-MY312	G236T/H268E/K326T/A330K/P396M	1,4E-06	1,5E-06	3,7E-06	4,0E-07	6,5E-07	1,1E-07	1,7E-07	1,1E-06	2,8E-06	2,3	3,4	4,6	4,5	0,55	6,3	6,5	4,2	0,29
M103205H795-MY316	G236L/H268E/Q295L/A330K/P396K	5,1E-06	8,6E-06	2,2E-05	2,0E-06	2,4E-06	4,4E-07	1,1E-06	4,0E-06	1,7E-05	0,6	0,6	0,8	0,9	0,15	1,6	1,0	1,2	0,05
M103205H795-MY318	G236L/H268E/K326T/A330K/P396M	7,9E-06	7,7E-06	3,2E-05	2,2E-06	1,5E-06	1,1E-06	1,3E-06	4,8E-06	8,7E-06	0,4	0,7	0,5	0,8	0,24	0,6	0,8	1,0	0,09
M103205H795-MY321	G236H/H268D/A330K/P396M	2,3E-06	2,2E-06	2,9E-06	6,4E-07	1,1E-06	7,1E-08	3,8E-07	2,6E-06	3,4E-06	1,4	2,3	5,9	2,8	0,33	9,7	2,9	1,8	0,24
M103205H795-MY325	G236D/H268D/A330K	4,0E-06	4,4E-06	5,8E-06	9,8E-07	4,0E-06	5,1E-07	3,0E-07	2,6E-07	8,1E-06	0,8	1,2	2,9	1,8	0,09	1,4	3,7	17,7	0,10
M103205H795-MY327	G236D/H268E/Q295L/A330K	3,4E-06	4,8E-06	5,3E-06	1,0E-06	4,5E-06	3,5E-07	2,0E-07	1,7E-07	9,9E-06	0,9	1,1	3,2	1,8	0,08	2,0	5,5	27,1	0,08
M103205H795-MY329	G236D/H268D/Q295L/A330K	1,9E-06	3,1E-06	3,7E-06	5,9E-07	2,3E-06	2,7E-07	2,1E-07	1,6E-07	6,4E-06	1,7	1,6	4,6	3,1	0,16	2,6	5,2	28,8	0,13

Bảng 23B

Phân tích động lực của các sự kết hợp khác

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-SG1	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY209	G236N/H268D/Q295L/K326T/A330K	6,3E-07	6,9E-07	1,9E-06	1,9E-07	2,2E-06	5,7E-07	8,8E-07	5,0E-07	1,4E-05	5,1	7,4	8,9	9,5	0,16	1,2	1,3	9,2	0,06
M103205H795-MY340	G236L/H268D/Q295L/A330K/P396K	4,3E-06	4,9E-06	2,3E-05	1,1E-06	2,3E-06	3,1E-07	8,3E-07	3,3E-06	1,7E-05	0,7	1,0	0,7	1,6	0,16	2,2	1,3	1,4	0,05
M103205H795-MY341	G236L/H268D/Q295L/K326T/A330K/P396K	2,6E-06	2,9E-06	8,8E-06	6,0E-07	9,4E-07	2,6E-07	4,2E-07	1,8E-06	7,0E-06	1,2	1,8	1,9	3,0	0,38	2,7	2,6	2,6	0,12
M103205H795-MY342	G236L/H268D/Q295L/A330K/P396M	5,1E-06	8,5E-06	5,1E-05	1,3E-06	2,6E-06	3,7E-07	1,0E-06	3,9E-06	2,5E-05	0,6	0,6	0,3	1,4	0,14	1,9	1,1	1,2	0,03
M103205H795-MY283	G236T/H268D/Q295L/A330K	1,4E-06	1,6E-06	4,4E-06	4,2E-07	2,2E-06	1,4E-07	3,5E-07	1,8E-06	5,7E-06	2,3	3,2	3,9	4,3	0,16	4,9	3,1	2,6	0,14
M103205H795-MY339	G236L/H268D/K326T/A330K/P396K	3,4E-06	3,0E-06	9,8E-06	7,5E-07	7,6E-07	4,1E-07	6,3E-07	2,8E-06	5,6E-06	0,9	1,7	1,7	2,4	0,47	1,7	1,7	1,6	0,14
M103205H795-MY380	G236N/H268E/A330K/P396K	9,3E-07	1,0E-06	3,3E-06	2,9E-07	2,8E-06	4,5E-07	8,5E-07	4,8E-07	1,0E-05	3,4	5,1	5,2	6,2	0,13	1,5	1,3	9,6	0,08
M103205H795-MY386	G236L/H268D/Q295L/K326T/A330K	5,2E-06	5,6E-06	1,6E-05	1,6E-06	2,5E-06	8,1E-07	1,7E-06	4,6E-06	2,4E-05	0,6	0,9	1,1	1,1	0,14	0,9	0,6	1,0	0,03
M103205H795-MY388	G236T/S239I/H268D/A330K	2,2E-06	1,7E-06	1,3E-06	7,6E-07	1,6E-06	3,3E-07	2,3E-07	1,5E-06	4,3E-06	1,5	3,0	13,1	2,4	0,23	2,1	4,8	3,1	0,19
M103205H795-MY389	G236T/S239L/H268D/A330K	2,0E-06	1,6E-06	1,4E-06	7,0E-07	1,5E-06	2,7E-07	1,9E-07	1,1E-06	3,5E-06	1,6	3,2	12,1	2,6	0,24	2,6	5,8	4,2	0,23
M103205H795-MY400	G236T/H268D/A330K/P331E	1,8E-06	2,2E-06	3,8E-06	6,3E-07	2,4E-06	4,2E-07	7,4E-07	2,5E-06	7,8E-06	1,8	2,3	4,5	2,9	0,15	1,6	1,5	1,8	0,10

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY392	G236T/H268D/S298L/A330K	3,0E-07	2,3E-06	3,9E-06	7,0E-07	4,0E-06	4,3E-07	4,1E-07	1,7E-06	9,3E-06	10,7	2,2	4,4	2,6	0,09	1,6	2,7	2,7	0,09
M103205H795-MY387	G236T/S239V/H268D/A330K	2,3E-06	1,9E-06	1,4E-06	8,3E-07	2,5E-06	2,4E-07	2,0E-07	1,6E-06	4,7E-06	1,4	2,7	12,1	2,2	0,14	2,9	5,5	2,9	0,17
M103205H795-MY514	G236T/S239V/H268D/S298L/A330K	2,6E-07	1,6E-06	1,5E-06	7,6E-07	4,4E-06	3,5E-07	1,6E-07	6,9E-07	8,8E-06	12,3	3,2	11,3	2,4	0,08	2,0	6,9	6,7	0,09
M103205H795-MY515	G236T/H268D/Q295L/S298L/A330K	1,4E-07	1,6E-06	2,9E-06	3,9E-07	3,8E-06	2,2E-07	2,6E-07	1,2E-06	9,0E-06	22,9	3,2	5,9	4,6	0,09	3,1	4,2	3,8	0,09
M103205H795-MY516	G236T/S239V/H268D/Q295L/S298L/A330K	1,5E-07	1,3E-06	7,9E-07	4,5E-07	3,0E-06	2,2E-07	8,5E-08	5,1E-07	6,7E-06	21,3	3,9	21,5	4,0	0,12	3,1	12,9	9,0	0,12
M103205H795-MY520	P232D/G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	2,5E-06	2,3E-06	2,1E-06	9,6E-07	2,0E-06	4,9E-07	3,4E-07	1,4E-06	3,5E-06	1,3	2,2	8,1	1,9	0,18	1,4	3,2	3,3	0,23
M103205H795-MY521	P232D/G236T/H268D/Q295L/A330K	2,5E-06	3,3E-06	4,4E-06	8,0E-07	2,2E-06	2,9E-07	3,0E-07	1,5E-06	5,1E-06	1,3	1,5	3,9	2,3	0,16	2,4	3,7	3,1	0,16
M103205H795-MY522	A231G/G236T/S239V/H268D/A330K	1,7E-06	1,2E-06	9,3E-07	5,3E-07	1,9E-06	2,4E-07	1,7E-07	1,1E-06	5,7E-06	1,9	4,3	18,3	3,4	0,19	2,9	6,5	4,2	0,14
M103205H795-MY523	A231G/G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	1,4E-06	1,3E-06	1,1E-06	4,8E-07	2,1E-06	1,9E-07	2,1E-07	1,1E-06	5,5E-06	2,3	3,9	15,5	3,8	0,17	3,6	5,2	4,2	0,15
M103205H795-MY524	A231G/G236T/H268D/Q295L/A330K	1,0E-06	1,1E-06	2,7E-06	3,1E-07	2,0E-06	1,1E-07	2,8E-07	1,0E-06	4,5E-06	3,2	4,6	6,3	5,8	0,18	6,3	3,9	4,6	0,18
M103205H795-MY525	A231T/G236T/S239V/H268D/A330K	1,6E-06	1,1E-06	1,1E-06	5,1E-07	1,4E-06	2,1E-07	1,6E-07	1,2E-06	4,3E-06	2,0	4,6	15,5	3,5	0,26	3,3	6,9	3,8	0,19
M103205H795-MY526	A231T/G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	1,3E-06	1,2E-06	1,3E-06	4,6E-07	1,6E-06	1,7E-07	2,1E-07	1,2E-06	4,3E-06	2,5	4,3	13,1	3,9	0,23	4,1	5,2	3,8	0,19
M103205H795-MY527	A231T/G236T/H268D/Q295L/A330K	1,1E-06	1,3E-06	3,4E-06	3,4E-07	1,5E-06	1,1E-07	2,9E-07	1,4E-06	4,5E-06	2,9	3,9	5,0	5,3	0,24	6,3	3,8	3,3	0,18
M103205H795-MY528	L234W/G236T/H268D/A330K	1,4E-06	1,5E-06	3,2E-06	4,1E-07	2,0E-06	3,5E-07	5,6E-07	2,2E-06	4,2E-06	2,3	3,4	5,3	4,4	0,18	2,0	2,0	2,1	0,19

		KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-MY529	L234W/G236T/H268D/Q295L/A330K	1,0E-06	1,4E-06	3,2E-06	3,0E-07	2,2E-06	2,3E-07	5,3E-07	1,4E-06	4,0E-06	3,2	3,6	5,3	6,0	0,16	3,0	2,1	3,3	0,20
M103205H795-MY530	G236T/H268D/K326T/A330K	1,3E-06	1,1E-06	2,5E-06	3,2E-07	8,6E-07	1,7E-07	2,7E-07	1,6E-06	3,6E-06	2,5	4,6	6,8	5,6	0,42	4,1	4,1	2,9	0,23
M103205H795-MY531	L234W/G236T/H268D/K326T/A330K	1,1E-06	9,2E-07	2,2E-06	2,7E-07	1,0E-06	2,9E-07	4,1E-07	1,5E-06	2,9E-06	2,9	5,5	7,7	6,7	0,36	2,4	2,7	3,1	0,28
M103205H795-MY532	L234W/G236T/S239V/H268D/A330K	7,7E-07	6,0E-07	7,4E-07	2,3E-07	8,6E-07	2,1E-07	1,9E-07	8,3E-07	1,7E-06	4,2	8,5	23,0	7,8	0,42	3,3	5,8	5,5	0,48
M103205H795-MY533	L234W/G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	8,0E-07	7,3E-07	1,2E-06	2,5E-07	1,1E-06	2,1E-07	2,0E-07	9,5E-07	1,8E-06	4,0	7,0	14,2	7,2	0,33	3,3	5,5	4,8	0,45
M103205H795-MY534	G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	1,3E-06	1,3E-06	1,2E-06	4,2E-07	1,7E-06	1,7E-07	1,9E-07	1,2E-06	4,3E-06	2,5	3,9	14,2	4,3	0,21	4,1	5,8	3,8	0,19
M103205H795-MY535	A231G/L234W/G236T/H268D/A330K	1,5E-06	1,4E-06	3,0E-06	4,1E-07	2,1E-06	3,9E-07	6,4E-07	1,9E-06	5,2E-06	2,1	3,6	5,7	4,4	0,17	1,8	1,7	2,4	0,16
M103205H795-MY536	A231G/L234W/G236T/S239V/H268D/A330K	1,2E-06	1,1E-06	9,8E-07	4,0E-07	1,6E-06	2,9E-07	2,2E-07	9,9E-07	2,7E-06	2,7	4,6	17,3	4,5	0,23	2,4	5,0	4,6	0,30
M103205H795-MY537	A231G/L234W/G236T/S239V/H268D/Q295L/A330K	1,2E-06	1,1E-06	1,4E-06	3,2E-07	1,5E-06	2,8E-07	3,7E-07	1,0E-06	3,3E-06	2,7	4,6	12,1	5,6	0,24	2,5	3,0	4,6	0,25
M103205H795-MY538	A231G/L234W/G236T/H268D/Q295L/A330K	9,6E-07	1,1E-06	3,0E-06	2,8E-07	2,4E-06	2,5E-07	6,2E-07	1,3E-06	5,7E-06	3,3	4,6	5,7	6,4	0,15	2,8	1,8	3,5	0,14

Bảng 24.

Hồ sơ gắn kết của các biến thể được thử nghiệm trong tất cả chuột chuyển gen Fc gama R người

				KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID số	Các thay thế	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIa1	FcgRIIa2	FcgRIIa3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
M103205H795-SG1	SG1	9	-	3,2E-06	5,1E-06	1,7E-05	1,8E-06	3,6E-07	6,9E-07	1,1E-06	4,6E-06	8,1E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-MY101	MY101	229	G236N/H268E/A330K/P396M	1,1E-06	1,2E-06	3,6E-06	3,5E-07	3,2E-06	4,9E-07	8,7E-07	4,9E-07	1,1E-05	2,9	4,3	4,7	5,1	0,11	1,4	1,3	9,4	0,07
M103205H795-PK2	PK2	230	G236N/H268E/A330K/P396M/S400R/D413K	1,3E-06	1,3E-06	3,8E-06	3,8E-07	3,9E-06	5,7E-07	1,1E-06	5,9E-07	1,3E-05	2,5	3,9	4,5	4,7	0,09	1,2	1,0	7,8	0,06
M103205H795-MY201	MY201	231	G236N/H268D/A330K	1,4E-06	1,4E-06	3,9E-06	4,3E-07	5,7E-06	9,1E-07	1,9E-06	1,1E-06	2,4E-05	2,3	3,6	4,4	4,2	0,06	0,8	0,6	4,2	0,03
M103205H795-MY351	MY351	232	G236N/H268D/Q311R/A330K/D413K	9,2E-07	7,6E-07	1,9E-06	3,5E-07	5,2E-06	1,0E-06	1,6E-06	1,2E-06	1,4E-05	3,5	6,7	8,9	5,1	0,07	0,7	0,7	3,8	0,06
M103205H795-MY205	MY205	233	G236N/H268D/Q295L/A330K	9,0E-07	1,1E-06	3,0E-06	2,5E-07	6,0E-06	4,7E-07	1,3E-06	5,6E-07	1,3E-05	3,6	4,6	5,7	7,2	0,06	1,5	0,8	8,2	0,06
M103205H795-MY344	MY344	234	G236N/H268D/Q295L/Q311R/A330K/D413K	8,9E-07	1,1E-06	2,2E-06	3,1E-07	4,9E-06	6,7E-07	1,2E-06	7,2E-07	1,9E-05	3,6	4,6	7,7	5,8	0,07	1,0	0,9	6,4	0,04
M103205H795-MY335	MY335	235	G236T/H268D/Q311R/A330K/D413K	2,0E-06	1,7E-06	2,7E-06	6,5E-07	1,5E-06	2,9E-07	2,9E-07	2,3E-06	5,0E-06	1,6	3,0	6,3	2,8	0,24	2,4	3,8	2,0	0,16

49038

Ví dụ 28

Đánh giá về sự đào thải myostatin bằng cách sử dụng các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb trong tất cả chuột chuyển gen Fc gama R người

Ảnh hưởng của sự đào thải myostatin bởi biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb xây dựng trong Ví dụ 27 được đánh giá ở chuột, mà trong đó toàn bộ các Fc gama R họ nhà chuột đã được loại bỏ và các Fc gama R người, được mã hóa như gen chuyển, được chèn vào trong bộ gen chuột (Proc. Natl. Acad. Sci., 2012, 109, 6181). Trong chuột này tất cả các Fc gama R chuột được thế bằng của người để sự ảnh hưởng của sự tăng cường ái lực với Fc gama RIIb người đối với sự đào thải của kháng nguyên hòa tan có thể được đánh giá ở chuột. Hơn thế nữa, các sự thay thế tăng pI được đánh giá khi kết hợp với các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb được dựng trong Ví dụ 27.

Sự điều chế và hồ sơ của các biến thể thử nghiệm

Các kháng thể 8 được thử nghiệm và các hồ sơ gắn kết của chúng được tóm tắt ở Bảng 24. Chuỗi nặng, MS103205H795-PK2, được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI (S400R/D413K) trong MS103205H795-MY101. MS103205H795-MY351, MS103205H795-MY344, MS103205H795-MY335 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI khác (Q311R/D413K) trong MS103205H795-MY201, MS103205H795-MY205, MS103205H795-MY265, tương ứng. Tất cả các biến thể MS1032LO06 được biểu hiện với M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ theo phương pháp được thể hiện trong Ví dụ 27 và các ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá sử dụng phương pháp trong Ví dụ 27.

Dựa vào sự phân tích SPR được tóm tắt ở Bảng 24, đã được xác nhận rằng các sự thay thế tăng pI không ảnh hưởng đến Fc gama R gắn kết của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb. MY101 và PK2, mà được điều chế bằng cách đưa vào S400R/D413K trong MY101, đã thể hiện 9-lần và 8-lần sự gắn kết Fc gama RIIb người được tăng cường, tương ứng. Các ái lực của MY101 và PK2 với Fc

gama RIIa người vẫn tương đương với SG1. Về các xynoFc gama R và Fc gama R người khác, chúng đã thể hiện hầu hết hồ sơ gắn kết như nhau. Tương tự, MY351 đã thể hiện hồ sơ gắn kết giống với tiểu sử của MY201 thể mẹ, MY344 với tiểu sử của MY205 thể mẹ, và MY335 với tiểu sử của MY265 thể mẹ (Bảng 21), tương ứng. Kết quả này cho thấy rằng hoặc cặp của các sự thay thế tăng pI, S400R/D413K hoặc Q311R/D413K, không gây ảnh hưởng tới các ái lực với các xynoFc gama R và Fc gama R người.

Nghiên cứu PK trong tất cả chuột chuyển gen Fc gama R

Thử nghiệm *in vivo* bằng cách sử dụng tất cả chuột chuyển gen Fc gama R người

Sự đào thải myostatin và kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được đánh giá *in vivo* trong khi đồng cung cấp của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn người trong tất cả Chuột chuyển gen Fc gama R người (các Fig. 24 và 25). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (0,3 mg/ml) và myostatin tiềm ẩn (0,05 mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg vào tĩnh mạch đuôi. Kháng thể kháng CD4 (1 mg/ml) được cung cấp ba lần (hằng 10 ngày) ở liều là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi để ngăn ngừa kháng thể kháng thuốc. Huyết được gom ở 5 phút, 15 phút, 1 giờ, 4 giờ, 7 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 28 ngày sau khi cung cấp. Huyết được gom được phân ly ngay tức thì ở 15.000 vòng/phút trong 4 °C trong 5 phút để tách huyết tương. Huyết tương được tách được bảo quản ở hoặc dưới -20 °C cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO06-SG1, MS1032LO06-MY101, MS1032LO06-PK2, MS1032LO06-MY201, MS1032LO06-MY351, MS1032LO06-MY205, MS1032LO06-MY344 và MS1032LO06-MY335.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng ECL. Kháng thể kháng myostatin trưởng thành - các đĩa được cố định được điều chế bằng cách phân tán kháng thể RK35 kháng myostatin trưởng thành (WO 2009058346)

trên đĩa 96-giếng MULTI-ARRAY (Meso Scale Discovery) và được ủ qua đêm ở 4°C. Các mẫu đường cong hiệu chỉnh myostatin trưởng thành và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 4-lần hoặc nhiều hơn được điều chế. Các mẫu được trộn trong dung dịch axit (0,2 M Glyxin-HCl, pH2,5) để phân tách myostatin trưởng thành từ protein gắn kết của nó (như propeptit). Sau đó, các mẫu được bổ sung trên đĩa giữ cố định kháng thể kháng myostatin trưởng thành, và được cho gắn kết trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Tiếp theo, kháng thể RK22 kháng myostatin trưởng thành được dán nhãn BIOTIN TAG (WO 2009/058346) được bổ sung và đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Tiếp theo, streptavidin được dán nhãn SULFO TAG (Meso Scale Discovery) được bổ sung và đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi rửa. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) ngay tức thì được bổ sung cho đĩa và tín hiệu được phát hiện bằng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery). Nồng độ myostatin trưởng thành được tính toán dựa vào sự đáp ứng của đường cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích SOFTmax PRO (Molecular Devices). Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 24.

Đo nồng độ kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương bởi sắc ký lỏng hiệu suất cao- phép đo phổ khối bộ đôi tia điện (LC/ESI-MS/MS)

Nồng độ kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương chuột được đo bằng LC/ESI-MS/MS. Các nồng độ của các tiêu chuẩn định cỡ là 1,56 25, 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, và 200 micro g/mL trong huyết tương chuột. Ba micro L của các tiêu chuẩn định cỡ và các mẫu huyết tương được bổ sung cho 50 micro L của Ab-Capture Mag (ProteNova), và được cho để cấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, các hạt từ được thu lại từ các mẫu và được rửa hai lần với 0,2 mL là 10 mmol/L PBS với 0,05% Tween 20. Sau đó, các hạt từ được rửa với 10 mmol/L PBS để đảm bảo loại bỏ Tween 20. Sau khi rửa, các hạt từ được huyền phù hóa trong 25 micro L của 7,5 mol/L urê, 8 mmol/L dithiothreitol và 1 micro g/mL lysozym (lòng trắng trứng gà) trong 50 mmol/L bicacbonat amoni và các mẫu được huyền phù hóa được ủ trong 45 phút ở 56 °C. Sau đó, 2 micro L của 500 mmol/L iodoacetoamit

được bổ sung và các mẫu được ủ trong 30 phút ở 37 °C trong bóng tối. Tiếp theo, khả năng phân cắt lysyl endopeptidaza được thực hiện bằng cách bổ sung 150 micro L của 0,67 micro g/mL Lysyl Endopeptidaza đối với Biochemistry (Wako) trong 50 mmol/L bicacbonat amoni và các mẫu được ủ trong 3 giờ ở 37 °C. Sau đó, để phân cắt tripsin, bổ sung 10 micro L là 10 micro g/mL trypsin được biến đổi loại trình tự (Promega) trong 50 mmol/L bicacbonat amoni. Các mẫu được cho gia nhiệt theo cách qua đêm ở 37 °C, và được làm nguội bằng cách bổ sung 5 micro L là 10% axit trifloaxetic. 50 micro L của các mẫu có khả năng phân cắt được cho qua phân tích bằng LC/ESI-MS/MS. LC/ESI-MS/MS được thực hiện sử dụng dụng cụ mạch bốn cực bộ ba Xevo TQ-S (Waters) được trang bị với UPLC lớp I 2D (Waters). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn đặc hiệu peptit YAFGQGTK và lizozim đặc hiệu peptit GTDVQAWIR như một tiêu chuẩn nội bộ được giám sát bởi giám sát phản ứng được chọn (SRM). Sự chuyển trạng thái SRM là [M+2H]2+ (m/z 436,2) đến ion y8 (m/z 637,3) đối với kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn, và [M+2H]2+ (m/z 523,3) đến ion y8 (m/z 545,3) đối với lysozym. Đường cong hiệu chỉnh bên trong được dựng bởi hồi quy tuyến tính có điều chỉnh (1/x hoặc 1/x2) sử dụng vùng đỉnh được chia nhỏ chống lại các nồng độ. Nồng độ trong huyết tương chuột được tính toán từ đường cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích Masslynx Ver.4.1 (Waters). Tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 25.

Ảnh hưởng của pI và Fc gama R gắn kết lên nồng độ myostatin *in vivo*

Sau khi cung cấp MS1032LO06-SG1, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 5 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Ngược lại, sau khi cung cấp MS1032LO06-MY101, MS1032LO06-MY201 và MS1032LO06-MY205, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 28-200 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Hơn thế nữa, sau khi cung cấp MS1032LO06-PK2, MS1032LO06-MY351, MS1032LO06-MY344 và MS1032LO06-MY335, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 361-419 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Mặt khác, sự khác

biệt về mỗi nồng độ kháng thể ở mỗi điểm lấy mẫu so với của MS1032LO06-SG1 là xấp xỉ trong 2 lần, và các biến thể pI không tăng cường đào thải kháng thể ra khỏi huyết tương. Cả sự gắn kết các kháng thể được tăng cường Fc gama RIIb người và thay đổi sự đào thải đã tăng cường pI tăng của myostatin, nhưng không ảnh hưởng đến kháng thể.

Các biến thể pI cao có nhiều điện tích dương trong huyết tương. Do điện tích dương này tương tác với bề mặt tế bào của điện tích âm, thể miễn dịch phức hợp kháng nguyên-kháng thể của các biến thể pI cao đến gần hơn với bề mặt tế bào, đã dẫn đến tăng cường hấp phụ tế bào của phức hợp thể miễn dịch kháng nguyên-kháng thể của các biến thể pI cao.

Ví dụ 29

Đánh giá về sự đào thải của myostatin sử dụng các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb ở khỉ

Ảnh hưởng của gắn kết được tăng cường của các biến thể Fc được phát triển trong Ví dụ 27 với xynoFc gama RIIb lên sự quét myostatin được đánh giá ở khỉ xynomolgus. Và hiệu quả kết hợp với các sự thay thế tăng PI cũng được đánh giá.

Sự điều chế và hồ sơ của các biến thể thử nghiệm

Các kháng thể 14 được thử nghiệm và các hồ sơ gắn kết của chúng được tóm tắt ở Bảng 25. Đã từng được báo cáo rằng biến thể Fc với việc gắn kết được tăng cường với FcRn ở pH có tính axit cải thiện chu kỳ bán thải kháng thể *in vivo* (J. Biol. Chem. 2006 281:23514-23524 (2006); Nat. Biotechnol. 28:157-159 (2010), Clin Pharm. & Thera. 89(2):283-290 (2011)). Để cải thiện chu kỳ bán thải kháng thể không có việc gắn kết với nhân tố bệnh thấp khớp họ đã kết hợp các sự thay thế này với Fc gama RIIb được tăng cường và các biến thể Fc pI đã tăng cường.

Chuỗi nặng, MS103205H795-SG1012, MS103205H795-SG1029, MS103205 H795-SG1031, MS103205H795-SG1033, MS103205H795-SG1034 được điều chế bằng cách đưa vào sự thay thế N434A trong MS103205H795-MY101, MS103205 H795-MY344, MS103205H795-MY351, MS103205H795-MY201,

MS103205H795-MY335, tương ứng. MS103205H795-SG1016 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI (Q311R/D399K) trong MS103205H795-SG1012. MS103240H795-SG1071 và MS103240H795-SG1079 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế M428L/N434A/Y436T/ Q438R/S440E và các sự thay thế N434A/Q438R/S440E trong MS103240 H795-MY344 tương ứng (MS103240H795: VH, SEQ ID NO; 92).

MS103240H795-SG1074 và MS103240H795-SG1077 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI Q311R/P343R và các sự thay thế M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E trong MS103240H795-MY209 và MS103240H795-MY518, tương ứng. MS103240H795-SG1080 và MS103240H795-SG1081 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI Q311R/P343R và các sự thay thế N434A/Q438R/S440E trong MS103240H795-MY209 và MS103240H795-MY518, tương ứng. MS103240H795-SG1071 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI Q311R/D413K và các sự thay thế M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E trong MS103240H795-MY205. MS103240H795-SG1079 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI Q311R/D413K và các sự thay thế N434A/Q438R/S440E trong MS103240H795-MY205. Các biến thể MS1032LO06 này và các biến thể MS1032LO19 được biểu hiện với M103202L889-SK1 và M103202L1045-SK1 tương ứng (M103202L1045: VL, SEQ ID NO: 97) như chuỗi nhẹ theo phương pháp được thể hiện trong Ví dụ 34 và các ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá sử dụng phương pháp trong Ví dụ 27. Trong Ví dụ này, giá trị của số lần KD đối với mỗi biến thể Fc được tính bằng cách chia giá trị KD của SG1 thể mẹ cho giá trị KD của biến thể đối với mỗi Fc gama R. Ví dụ, giá trị số lần KD đối với MS1032LO06-SG1012 và MS1032LO19-SG1071 được tính bằng cách chia các giá trị KD của MS1032LO06-SG1 và MS1032LO19-SG1 cho các giá trị KD của MS1032LO06-SG1012 và MS1032LO19-SG1071 tương ứng.

Bảng 25

				KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID NO	Đột biến	FcgRIIa 1	FcgRIIa 2	FcgRIIa 3	FcgRIIb	FcgRIII aS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIa V	FcgRIIa 1	FcgRIIa 2	FcgRIIa 3	FcgRIIb	FcgRIII aS	FcgRII aH	FcgRII aR	FcgRII b	FcgRII IaV
M103205H795-SG1	SG1	9	-	4,8E-06	4,7E-06	8,6E-06	1,9E-06	2,8E-07	8,9E-07	1,0E-06	4,7E-06	6,2E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795-SG1012	SG1012	236	G236N/H268E/A330K/P396M/N434A	1,1E-06	1,0E-06	2,3E-06	2,7E-07	2,1E-06	5,0E-07	7,5E-07	4,9E-07	5,8E-06	4,4	4,7	3,8	7,2	0,13	1,8	1,4	9,6	0,11
M103205H795-SG1016	SG1016	237	G236N/H268E/Q311R/A330K/P396M/D399R/N434A	1,3E-06	1,1E-06	2,2E-06	3,3E-07	2,4E-06	6,0E-07	8,2E-07	5,5E-07	1,0E-05	3,8	4,1	3,9	6,0	0,12	1,5	1,2	8,7	0,06
M103205H795-SG1029	SG1029	238	G236N/H268D/Q295L/Q311R/A330K/D413K/N434A	1,4E-06	1,5E-06	3,1E-06	4,0E-07	5,3E-06	7,9E-07	1,3E-06	9,0E-07	2,0E-05	3,5	3,1	2,8	4,9	0,05	1,1	0,8	5,3	0,03
M103205H795-SG1031	SG1031	239	G236N/H268D/Q311R/A330K/D413K/N434A	1,8E-06	1,5E-06	2,8E-06	5,0E-07	4,4E-06	1,3E-06	8,0E-07	1,2E-06	1,5E-05	2,6	3,1	3,1	3,9	0,06	0,7	1,3	3,8	0,04
M103205H795-SG1033	SG1033	240	G236N/H268D/A330K/N434A	1,8E-06	1,5E-06	3,0E-06	5,0E-07	4,4E-06	1,2E-06	1,0E-06	1,2E-06	1,2E-05	2,6	3,0	2,9	3,9	0,06	0,7	1,0	3,9	0,05
M103205H795-SG1034	SG1034	241	G236T/H268D/Q311R/A330K/D413K/N434A	3,1E-06	2,7E-06	4,2E-06	8,8E-07	2,2E-06	3,1E-07	2,5E-07	2,6E-06	7,1E-06	1,5	1,7	2,0	2,2	0,13	2,9	4,1	1,8	0,09
M103240H795-SG1	SG1	9		3,8E-06	4,1E-06	6,6E-06	1,7E-06	2,6E-07	9,7E-07	9,6E-07	3,8E-06	5,8E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103240H795-SG1071	SG1071	242	G236N/H268D/Q295L/Q311R/A330K/D413K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	1,2E-06	1,3E-06	2,1E-06	3,3E-07	3,8E-06	6,9E-07	1,2E-06	6,8E-07	1,4E-05	3,0	3,2	3,1	5,3	0,07	1,4	0,8	5,6	0,04
M103240H795-SG1074	SG1074	243	G236N/H268D/Q295L/Q311R/K326T/A330K/P343R/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	7,0E-07	6,8E-07	1,1E-06	1,6E-07	1,4E-06	4,5E-07	5,4E-07	3,8E-07	4,5E-06	5,4	6,1	6,2	11,1	0,19	2,2	1,8	10,2	0,13
M103240H795-SG1077	SG1077	244	L235W/G236N/H268D/Q295L/Q311R/K326T/A330K/P343R/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	1,4E-06	1,3E-06	2,0E-06	3,2E-07	2,9E-06	9,3E-07	6,9E-07	5,1E-07	3,4E-06	2,7	3,1	3,3	5,4	0,09	1,0	1,4	7,5	0,17
M103240H795-SG1079	SG1079	245	G236N/H268D/Q295L/Q311R/A330K/D413K/N434A/Q438R/S440E	1,1E-06	1,2E-06	2,1E-06	3,0E-07	3,3E-06	6,7E-07	1,2E-06	6,9E-07	3,2E-06	3,4	3,4	3,2	5,7	0,08	1,4	0,8	5,6	0,18
M103240H795-SG1080	SG1080	246	G236N/H268D/Q295L/Q311R/K326T/A330K/P343R/N434A/Q438R/S440E	6,5E-07	6,8E-07	1,1E-06	1,4E-07	1,4E-06	4,5E-07	5,6E-07	3,7E-07	4,6E-06	5,8	6,1	6,1	12,6	0,19	2,1	1,7	10,5	0,13
M103240H795-SG1081	SG1081	247	L235W/G236N/H268D/Q295L/Q311R/K326T/A330K/P343R/N434A/Q438R/S440E	1,4E-06	1,3E-06	2,1E-06	2,9E-07	2,9E-06	9,9E-07	6,8E-07	5,0E-07	3,4E-06	2,7	3,2	3,1	5,9	0,09	1,0	1,4	7,7	0,17

Các kết quả phân tích SPR được tóm tắt ở Bảng 25. Trong số các biến thể này, SG1012, SG1016, SG1074 và SG1080 thể hiện ái lực mạnh nhất với Fc gama RIIb người, mà có 10 lần ái lực được tăng cường với Fc gama RIIb người so với SG1.

29.2. Nghiên cứu PK trên khỉ

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng khỉ xynomolgus

Sự tích tụ của myostatin nội sinh được đánh giá *in vivo* trong khi cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn ở Macaca fascicularis (khỉ xynomolgus) 2 đến 4 tuổi từ Campuchia (Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd., Japan). Mức liều 30 mg/kg được tiêm trong tĩnh mạch trong đầu của cẳng tay sử dụng ống tiêm, ống nối, kim tiêm nằm trong, và bơm truyền dùng một lần. Tốc độ cấp liều là 30 phút cho một người. Máu được gom trước khi bắt đầu cấp liều và hoặc 5 phút, 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 và 56 ngày sau khi hết cấp liều, hoặc 5 phút và 2, 4, và 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 và 56 ngày sau khi hết cấp liều. Máu được rút ra từ tĩnh mạch đùi với ống tiêm chứa natri eparin. Máu được làm mát ngay tức thì trên đá, và huyết tương đã thu được bằng cách ly tâm ở 4 °C, 1700 x g trong 10 phút. Các mẫu huyết tương được bảo quản trong thiết bị bảo quản ở nhiệt độ rất thấp (phạm vi có thể chấp nhận được: -70 °C hoặc thấp hơn) cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO00-SG1, MS1032LO06-SG1012, MS1032LO06-SG1016, MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031, MS1032LO06-SG1033, và MS1032LO06-SG1034 (ở đây, SG1012, SG1016, SG1029, SG1031, SG1033, và SG1034 là các chuỗi nặng vùng ổn định được dựng dựa vào SG1 như được mô tả dưới đây).

Mức liều lượng 2mg/kg được cung cấp trong tĩnh mạch trong đầu của cẳng tay hoặc tĩnh mạch hiển sử dụng ống tiêm dùng một lần, và kim tiêm nằm trong đối với các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074,

MS1032LO19-SG1081, và MS1032LO19-SG1077 (ở đây, SG1079, SG1071, SG1080, SG1074, SG1081, và SG1077 là các chuỗi nặng vùng ổn định được dựng dựa vào SG1 như được mô tả dưới đây). Huyết được gom trước khi bắt đầu cấp liều và 5 phút và 2, 4, và 7 giờ và 1, 2, 3, 7, 14 ngày sau khi hết cấp liều. Huyết được xử lý như được mô tả trên đây. Các mẫu huyết tương được bảo quản trong thiết bị bảo quản ở nhiệt độ rất thấp (phạm vi có thể chấp nhận được: -70 ^{oC} hoặc thấp hơn) cho đến khi đo.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương khỉ được đo bằng ECL như được mô tả trong Ví dụ 23. Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn như được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 26.

Đo ADA trong huyết tương khỉ sử dụng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Thuốc được biotin hóa được phủ trên đĩa streptavidin MULTI-ARRAY 96 giếng (Meso Scale Discovery) và được ủ trong đệm lai thấp (Candor) trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các mẫu huyết tương khỉ được pha loãng 20 lần trong đệm lai thấp trước khi bổ sung cho đĩa. Các mẫu được ủ qua đêm ở 4°C. Vào ngày tiếp theo, đĩa được rửa ba lần với đệm rửa trước khi bổ sung kháng thể thứ cấp IgG kháng khỉ được dán nhãn SULFO TAG (Thermo Fisher Scientific). Sau khi ủ trong một giờ ở nhiệt độ phòng, đĩa được rửa ba lần với đệm rửa. Đệm đọc T (x4) (Meso Scale Discovery) ngay tức thì được bổ sung cho đĩa và tín hiệu được phát hiện bằng cách sử dụng SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery).

Ảnh hưởng của sự phụ thuộc pH và kỹ thuật Fc lên sự tích tụ myostatin ở khỉ *in vivo*

Ở khỉ xynomolgus, khi cung cấp kháng thể không phụ thuộc pH (MS1032LO00-SG1) đã dẫn đến ít nhất 60 lần tăng cường về nồng độ myostatin

vạch chuẩn vào ngày 28. Vào ngày 28, các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO06-SG1012 và MS1032LO06-SG1033 đã dẫn đến 3 lần và 8 lần tăng cường từ vạch chuẩn tương ứng. Sự quét mạnh được góp phần chủ yếu bởi sự tăng cường về ái lực với Fc gama RIIb khỉ xynomolgus. Vào ngày 28, các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031 và MS1032LO06-SG1034 có thể quét kháng nguyên đến dưới vạch chuẩn. Lý do cho sự quét mạnh của MS1032LO06-SG1029, MS1032LO06-SG1031 và MS1032LO06-SG1034 là sự tăng cường về sự hấp thu không đặc trưng trong tế bào do sự tăng cường về cụm điện tích dương của kháng thể và sự tăng cường về sự hấp thu tế bào trung gian Fc gama R do việc gắn kết được tăng cường với Fc gama R.

Khi cung cấp các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn phụ thuộc pH MS1032LO19-SG1079, MS1032LO19-SG1071, MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081 và MS1032LO19-SG1077 đã giảm nồng độ myostatin đến dưới giới hạn dò tìm (<0,25ng/mL) từ này 1 ở khỉ xynomolgus. Vào ngày 14, nồng độ của myostatin đã tăng cường trên giới hạn dò tìm đối với MS1032LO19-SG1079 và MS1032LO19-SG1071 trong khi nồng độ của myostatin còn lại dưới giới hạn dò tìm đối với MS1032LO19-SG1080, MS1032LO19-SG1074, MS1032LO19-SG1081 và MS1032LO19-SG1077. Sự ức chế yếu hơn của MS1032LO19-SG1079 và MS1032LO19-SG1071 có thể do sự khác biệt ở các đột biến pI.

Dữ liệu đề xuất rằng sự quét mạnh của myostatin từ huyết tương có thể đã đạt được bằng các đột biến mà tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIb hoặc kết hợp các đột biến mà tăng cường điện tích dương của kháng thể và tăng cường việc gắn kết với Fc gama RIIb. Nó được mong đợi rằng sự quét mạnh của myostatin có thể đã đạt được ở người bằng cách kết hợp các đột biến mà tăng cường điện tích dương của kháng thể và tăng cường việc gắn kết với Fc gama R.

Ví dụ 30

Sàng lọc các sự thay thế pI đã tăng cường để tăng cường sự đào thải myostatin.

Để tăng cường sự đào thải myostatin, các sự thay thế tăng pI ở phần Fc của kháng thể được đánh giá trong Ví dụ này. Phương pháp bổ sung các sự thay thế axit amin cho vùng ổn định kháng thể để tăng cường pI là không bị giới hạn cụ thể, nhưng ví dụ, nó có thể được thực hiện bằng phương pháp được mô tả ở WO 2014/145159. Như trong trường hợp với vùng biến đổi, các sự thay thế axit amin được đưa vào trong vùng ổn định là tốt hơn là sự thay thế axit amin mà làm giảm số các axit amin mang điện tích âm (như axit aspartic và axit glutamic) trong khi tăng cường axit amin mang điện tích dương (như arginin và lysin). Hơn thế nữa, các sự thay thế axit amin có thể được đưa vào tại vị trí bất kỳ trong vùng ổn định kháng thể, và có thể là sự thay thế axit amin riêng lẻ hoặc sự kết hợp của nhiều sự thay thế axit amin. Không có sự giới hạn cụ thể, các vị trí để đưa vào các sự thay thế axit amin tốt hơn là các vị trí ở đó các chuỗi bên axit amin có thể được lộ ra trên bề mặt phân tử kháng thể. Cụ thể, thích hợp là các Ví dụ bao gồm phương pháp đưa vào sự kết hợp của nhiều sự thay thế axit amin ở các vị trí này mà có thể được lộ ra trên bề mặt phần tử kháng thể. Ngoài ra, nhiều sự thay thế axit amin được đưa vào đây tốt hơn được định vị để chúng gần giống nhau về cấu trúc. Hơn thế nữa, không có sự giới hạn cụ thể, nhiều sự thay thế axit amin được đưa vào ở đây tốt hơn là các sự thay thế cho các axit amin mang điện tích dương, để tốt hơn là chúng đưa đến trạng thái mà ở đó nhiều điện tích dương có mặt ở các vị trí ở đầu gần cấu trúc.

Sự điều chế và hồ sơ của các biến thể thử nghiệm

Các kháng thể thử nghiệm được tóm tắt ở Bảng 26. Chuỗi nặng, MS103205H795-SG141 được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng PI Q311R/D399R trong MS103205H795-SG1. Các biến thể chuỗi nặng khác cũng được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tương ứng được thể hiện ở Bảng 26 trong MS103205H795-SG1. Toàn bộ các biến thể MS1032LO06 được biểu

hiện với M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ theo phương pháp được thể hiện ở Ví dụ 34.

Thử nghiệm gắn kết Fc gama RII chuột của các biến thể Fc pI đã tăng cường sử dụng BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký)

Về vùng biến thể Fc-chứa các kháng thể được sản xuất, các thử nghiệm gắn kết giữa Fc gama RII chuột hòa tan và các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được thực hiện sử dụng BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) T200 (GE Healthcare). Fc gama RII chuột hòa tan được sản xuất dưới dạng phân tử đích His bằng phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Số lượng thích hợp của kháng thể kháng His được cố định trên vi mạch cảm biến CM5 (GE Healthcare) bằng phương pháp nối amin sử dụng kit bắt giữ His (GE Healthcare) để bắt giữ Fc gama RII chuột. Tiếp theo, phức hợp kháng thể-kháng nguyên và đệm trượt (như một dung dịch tham khảo) được tiêm vào, và sự tương tác được cho tổ chức với Fc gama RII chuột được bắt trên vi mạch cảm biến. 20 mM axit N-(2-Axetamido)-2-aminoetanesulfonic, 150 mM NaCl, 1,2 mM $CaCl_2$, và 0,05% (w/v) Tween 20 ở pH 7,4 được sử dụng như đệm trượt, và đệm tương ứng cũng được sử dụng để pha loãng Fc gama RII chuột hòa tan. Để tạo ra vi mạch cảm biến, 10 mM glyxin-HCl ở pH1,5 được sử dụng. Toàn bộ việc đo được thực hiện ở 25 °C. Các phân tích được thực hiện dựa vào gắn kết (RU) được tính toán từ các cảm biến sensorgram đã thu được bằng cách đo, và các giá trị tương đối khi số lượng gắn kết của SG1 được xác định là 1,00 được thể hiện. Để tính toán các thông số, Phần mềm đánh giá BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) T100 (GE Healthcare) được sử dụng.

Các kết quả phân tích SPR được tóm tắt ở Bảng 26. Một vài biến thể Fc được thể hiện để có ái lực được tăng cường về phía Fc gama RII chuột được cố định trên vi mạch cảm biến BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký).

Trong khi không bị giới hạn đến lý thuyết cụ thể, kết quả này có thể được giải thích như sau. Vi mạch cảm biến BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) là đã

biết để được mang điện tích âm, và trạng thái điện tích này có thể được coi là để tương đồng với bề mặt màng tế bào. Cụ thể hơn, ái lực của phức hợp kháng nguyên-kháng thể đối với Fc gama RII chuột được cố định trên vi mạch cảm biến BIACORE (nhãn hiệu được đăng ký) mang điện tích âm được ước đoán để tương đồng với kiểu trong đó phức hợp kháng nguyên-kháng thể gắn kết với Fc gama RII chuột thể hiện trên bề mặt màng tế bào mang điện âm tương tự.

Bảng 26

Tóm tắt về các biến thể Fc được tăng cường pI

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	Sự hấp thu tế bào	Gắn kết IC lõi sinh học
M103205H795-SG1	-	1,00	1,00
M103205H795-SG141	Q311R/D399R	4,42	1,64
M103205H795-P1375m	Q311R/D413K	3,43	1,21
M103205H795-P1378m	S400R/D413K	3,86	1,23
M103205H795-P1383m	Q311R/ S400R/D413K	5,68	1,41
M103205H795-P1484m	Q311R/D312R	0,00	1,33
M103205H795-P1485m	Q311R/N315R	1,88	1,29
M103205H795-P1486m	Q311R/N315K	1,52	1,20
M103205H795-P1487m	Q311R/N384R	1,23	1,46
M103205H795-P1488m	Q311R/N384K	1,45	1,43
M103205H795-P1489m	Q311R/E318R	1,68	1,24
M103205H795-P1490m	Q311R/E318K	1,33	1,28
M103205H795-P1491m	Q311R/E333R	1,37	1,05
M103205H795-P1492m	Q311R/E333K	1,13	0,88
M103205H795-P1493m	Q311R/T335R	0,99	1,10
M103205H795-P1494m	Q311R/T335K	1,12	1,14
M103205H795-P1495m	Q311R/S337R	1,76	1,30
M103205H795-P1496m	Q311R/S337K	1,69	1,28

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	Sự hấp thu tế bào	Gắn kết IC lõi sinh học
M103205H795-P1497m	Q311R/Q342R	1,38	1,49
M103205H795-P1498m	Q311R/Q342K	1,56	1,38
M103205H795-P1499m	Q311R/P343R	3,61	1,98
M103205H795-P1500m	Q311R/P343K	1,82	1,32
M103205H795-P1501m	Q311R/D413R	2,40	1,82
M103205H795-P1522m	Q311R/H285R	2,13	1,24
M103205H795-P1523m	Q311R/H285K	1,91	1,19
M103205H795-P1524m	Q311R/G341R	3,66	1,40
M103205H795-P1525m	Q311R/G341K	3,55	1,31
M103205H795-P1526m	Q311R/G385R	1,20	1,04
M103205H795-P1527m	Q311R/G385K	0,92	0,98
M103205H795-P1528m	Q311R/E388R	3,02	1,12
M103205H795-P1529m	Q311R/E388K	2,86	1,08
M103205H795-P1530m	Q311R/N390R	3,12	1,09
M103205H795-P1531m	Q311R/N390K	2,35	1,01
M103205H795-P1532m	Q311R/D401R	4,16	1,23
M103205H795-P1533m	Q311R/D401K	3,52	1,18
M103205H795-P1534m	Q311R/G402R	3,12	1,12
M103205H795-P1535m	Q311R/G402K	2,49	1,11
M103205H795-P1536m	Q311R/G420R	2,05	1,16
M103205H795-P1537m	Q311R/V422R	2,77	1,32
M103205H795-P1538m	Q311R/V422K	1,84	1,11
M103205H795-P1539m	Q311R/A431R	3,20	0,90
M103205H795-P1540m	D401R/D413K	7,64	1,73
M103205H795-P1541m	D401K/D413K	7,17	1,57
M103205H795-P1542m	G402R/D413K	3,32	1,21
M103205H795-P1543m	G402K/D413K	3,70	1,19

Tên chuỗi nặng	Các thay thế	Sự hấp thu tế bào	Gắn kết IC lõi sinh học
M103205H795-P1544m	Q311R/D401R/D413K	7,66	2,04
M103205H795-P1545m	Q311R/D401K/D413K	7,73	1,80
M103205H795-P1546m	Q311R/G402R/D413K	5,10	1,41
M103205H795-P1547m	Q311R/G402K/D413K	4,85	1,33
M103205H795-P1548m	Q311R/G385R/D401R	2,30	1,37
M103205H795-P1549m	Q311R/G385R/G402R	2,03	1,22
M103205H795-P1550m	Q311R/E388R/ D401R	6,43	1,63
M103205H795-P1551m	Q311R/E388R/G402R	2,91	1,33
M103205H795-P1552m	G385R/D401R/D413K	4,44	2,19
M103205H795-P1553m	G385R/G402R/D413K	2,86	1,47
M103205H795-P1555m	E388R/G402R/D413K	3,71	2,01

Ở đây, các kháng thể được sản xuất bằng cách đưa vào các biến đổi tăng cường pI trong vùng Fc là các kháng thể trong đó điện tích của vùng Fc là nhiều hơn về phía cực dương khi so với trước khi đưa vào các biến đổi. Do đó, sự tương tác cu lông giữa vùng Fc (điện tích dương) và bề mặt vi mạch cảm biến (điện tích âm) có thể được coi là đã từng được tăng cường bởi các biến đổi axit amin tăng cường pI. Hơn thế nữa, các hiệu quả được mong đợi này được tổ chức tương tự trên cùng bề mặt màng tế bào mang điện âm; do đó, chúng cũng được mong đợi để thể hiện ảnh hưởng của việc làm tăng tốc độ của sự hấp thu trong các tế bào *in vivo*.

Trong số các biến thể Fc pI đã tăng cường với hai sự thay thế axit amin từ SG1, phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo ra bởi SG141, P1499m, P1501m và P1540m thể hiện việc gắn kết cao nhất với Fc gama RIIb người. Các sự thay thế axit amin trên Q311R/D399R, Q311R/P343R, Q311R/D413R và D401R/D413K được hỗ trợ để có hiệu quả điện tích mạnh lên việc gắn kết với Fc gama RIIb người trên vi mạch cảm biến.

Sự hấp thu tế bào của các biến thể Fc pI đã tăng cường

Để đánh giá tốc độ của sự hấp thu nội bào trong dòng tế bào biểu hiện Fc gama RIIb người, thử nghiệm sau được thực hiện. Dòng tế bào MDCK (Madin-Darby canine kidney) mà về cơ bản biểu hiện Fc gama RIIb người được sản xuất bởi các phương pháp đã biết. Sử dụng các tế bào này, sự hấp thu nội bào của các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được đánh giá.

Cụ thể là, pHrodoRed (Life Technlogies) được sử dụng để dán nhãn myostatin tiềm ẩn người (kháng nguyên) theo một giao thức đã thiết lập, và các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo thành trong dung dịch cấy với nồng độ kháng thể là 10 mg/mL và nồng độ kháng nguyên là 2,5 mg/mL. Dung dịch cấy chứa các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được bổ sung để cấy các đĩa của các tế bào MDCK nêu trên mà về cơ bản biểu hiện Fc gama RIIb người và được ủ trong 1 giờ, và sau đó cường độ phát huỳnh quang của kháng nguyên được bắt giữ trong các tế bào được xác định số lượng sử dụng InCell Analyzer 6000 (GE healthcare). Số lượng của kháng nguyên được bắt giữ được thể hiện như các giá trị tương đối với giá trị SG1 mà được tính là 1,00.

Các kết quả xác định số lượng của sự hấp thu tế bào được tóm tắt ở Bảng 26. Sự phát huỳnh quang mạnh có nguồn gốc từ kháng nguyên trong các tế bào được quan sát ở một vài biến thể Fc.

Trong khi không bị giới hạn ở lý thuyết cụ thể, kết quả này có thể được giải thích như sau.

Kháng nguyên và các kháng thể được bổ sung cho dung dịch cấy tế bào tạo thành các phức hợp kháng nguyên-kháng thể trong dung dịch cấy. Các phức hợp kháng nguyên-kháng thể gắn kết với Fc gama RIIb người được biểu hiện trên màng tế bào nhờ kháng thể vùng Fc, và được bắt giữ trong các tế bào theo cách phụ thuộc thụ thể. Các kháng thể được sử dụng trong thử nghiệm này gắn kết với kháng nguyên theo cách phụ thuộc pH; do đó, kháng thể có thể phân ly từ kháng nguyên trong các hạt cơ quan nội bào (các tình trạng pH có tính axit) bên trong

các tế bào. Do kháng nguyên đã phân ly được dán nhãn với pHrodoRed như được mô tả trên đây, nó phát huỳnh quang trong các hạt cơ quan nội bào. Do đó, cường độ phát huỳnh quang mạnh bên trong tế bào được hiểu là để biểu thị rằng sự hấp thu của các phức hợp kháng nguyên-kháng thể trong các tế bào được tổ chức nhanh hơn hoặc theo các số lượng lớn hơn.

Trong số các biến thể Fc pI đã tăng cường với hai sự thay thế axit amin từ SG1, phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo ra bởi SG141, P1375m, P1378m, P1499m, P1524m, P1525m, P1532m, P1533m, P1540m, P1541m và P1543m thể hiện sự hấp thu kháng nguyên mạnh hơn trong các tế bào. Các sự thay thế axit amin trên Q311R/D399R, Q311R/D413K, S400R/D413K, Q311R/P343R, Q311R/G341R, Q311R/G341K, Q311R/D401R, Q311R/D401K, D401R/D413K, D401K/D413K và G402K/D413K được hỗ trợ để có hiệu quả điện tích mạnh lên phức hợp hấp thu kháng nguyên kháng thể trong các tế bào.

Nghiên cứu PK trong thử nghiệm *in vivo* chuột chuyển gen FcRn người sử dụng chuột chuyển gen FcRn người

Sự đào thải của myostatin và kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được đánh giá *in vivo* trong khi đồng cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn ở chuột chuyển gen FcRn người trong đó FcRn chuột được thế với FcRn người. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (0,1 mg/ml) và myostatin chuột tiềm ẩn (0,05 mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi trong thử nghiệm PK-2 (được mô tả ở Fig. 27). Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (0,3 mg/ml), myostatin tiềm ẩn người (0,05 mg/ml) và globulin miễn dịch bình thường người (CSL Behring AG) (100 mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi trong thử nghiệm PK-4 (được mô tả ở Fig. 28). Huyết được gom ở 5 phút, 15phút, 1 giờ, 4 giờ, 7 giờ, 1 ngày, 2ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 28 ngày sau khi cung cấp trong thử nghiệm PK-2. Huyết được gom ở 5 phút, 1 giờ, 4 giờ, 7 giờ, 1 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 30 ngày sau khi cung cấp trong thử nghiệm PK-4. Huyết đã gom được phân ly

ngay tức thì ở 15.000 vòng/phút trong 4 °C trong 5 phút để tách huyết tương. Huyết tương được tách được bảo quản ở hoặc dưới -20 °C cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO06-SG1, MS1032LO06-P1375m, MS1032LO06-P1378m, MS1032LO06-P1383m trong thử nghiệm PK-2, và MS1032LO06-P1375m, MS1032LO06-P1499m trong thử nghiệm PK-4.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL)

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng ECL như được mô tả trong Ví dụ 28 (Ravetch PK). Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở các Fig. 27A và 28A.

Đo nồng độ kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA)

Nồng độ của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương chuột được đo bằng ELISA trong thử nghiệm PK-2. IgG kháng người (chuỗi gama đặc hiệu) mảnh kháng thể F(ab')2 (Sigma) được phủ lên A Nunc-ImmunoPlate MaxiSorp (Nalge Nunc International) và được giữ nguyên trạng thái qua đêm ở 4°C để điều chế các đĩa được cố định IgG kháng người. Đường cong hiệu chỉnh các mẫu có các nồng độ huyết tương là 2,5, 1,25, 0,625, 0,313, 0,156, 0,078, và 0,039 micro g/ml, và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 100-lần hoặc nhiều hơn được điều chế. Sau đó, các mẫu được phân phối trên các đĩa được cố định IgG kháng người, và được giữ nguyên trạng thái trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, IgG kháng người dê (chuỗi gama đặc hiệu) tiếp hợp sinh tố H (Southern Biotech) được bổ sung để phản ứng lại trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, Streptavidin-PolyHRP80 (Stereospecific Detection Technologies) được bổ sung để phản ứng lại trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng, và phản ứng của thể nhiễm sắc được

thực hiện sử dụng TMB One Component HRP Microwell Subtrate (BioFX Laboratories) như một chất nền. Sau khi dừng phản ứng với 1 N axit sulfuric (Showa Chemical), khả năng hút ở 450 nm được đo bằng đầu đọc vi đĩa. Nồng độ trong huyết tương chuột được tính toán từ khả năng hút của đường cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích SOFTmax PRO (Molecular Devices). Tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và Myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 27B.

Nồng độ của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương chuột được đo bằng Gyrolab Bioaffy™ CD (Gyros) trong thử nghiệm PK-4. Kháng thể IgG Fc kháng người được biotin hóa được chảy lỏng trên cột giọt streptavidin trong tổ chức tế vi của các CD. Đường cong hiệu chỉnh các mẫu có các nồng độ huyết tương là 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, và 32 micro g/ml các nồng độ huyết tương cá thu con là 5 mg/mL của globulin miễn dịch bình thường người (CSL Behring AG) và 200 micro g/ml của myostatin tiềm ẩn chuột, và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 25-lần hoặc nhiều hơn các nồng độ huyết tương cá thu con là 200 micro g/ml của myostatin tiềm ẩn chuột được điều chế. Sau đó các mẫu được bổ sung trong các CD và được chảy lỏng trên cột giọt. Sau đó, kháng thể đa dòng IgG kháng người được dãn nhãn Alexa (BETYL) được bổ sung trong các CD và được chảy lỏng trên cột giọt. Nồng độ trong huyết tương chuột được tính toán từ sự đáp ứng của đường cong hiệu chỉnh sử dụng Chương trình đánh giá Gyrolab. Tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 28B.

Ảnh hưởng của pI lên nồng độ myostatin *in vivo*

Sau khi cung cấp MS1032LO06-SG1, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 12 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút trong thử nghiệm PK-2. Ngược lại, sau khi cung cấp MS1032LO06-P1375m,

MS1032LO06-P1378m và MS1032LO06-P1383m, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 26-67 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút trong thử nghiệm PK-2. Nồng độ kháng thể của MS1032LO06-P1378m và MS1032LO06-P1383m được giảm hơn 3 lần so với nồng độ của MS1032LO06-SG1, mặc dù sự khác biệt về nồng độ của MS1032LO06-P1375m's ở mỗi điểm lấy mẫu so với MS1032LO06-SG1's là bên trong 2 lần trong thử nghiệm PK-2. Các biến thể pI bao gồm các sự thay thế axit amin lên Q311R/D413K đã thể hiện sự tăng cường đào thải myostatin ra khỏi huyết tương nhưng không tăng cường đào thải kháng thể ra khỏi huyết tương.

Hơn thế nữa, tổng nồng độ myostatin và nồng độ kháng thể sau khi cung cấp của MS1032LO06-P1499m được đánh giá theo sự đồng cung cấp của globulin miễn dịch bình thường người để bắt chước huyết tương người. Sau khi cung cấp MS1032LO06-P1375m và MS1032LO06-P1499m, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 3,4 và 5,3 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút, và tổng nồng độ myostatin và nồng độ kháng thể ở mỗi điểm lấy mẫu trong MS1032LO06-P1499m là nằm trong 1,5 lần so với chúng trong MS1032LO06-P1375m trong thử nghiệm PK-4. Các biến thể pI bao gồm các sự thay thế axit amin trên Q311R/P343R cũng đã thể hiện sự tăng cường của sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương mà không có sự tăng cường đào thải kháng thể ra khỏi huyết tương.

Các biến thể pI cao có nhiều điện tích dương trong huyết tương. Do điện tích dương này tương tác với bề mặt tế bào của điện tích âm, phức hợp kháng nguyên-kháng thể thể miễn dịch của các biến thể pI cao đến gần hơn bề mặt tế bào, đã dẫn đến tăng cường sự hấp phụ tế bào của thể miễn dịch phức hợp kháng nguyên-kháng thể của các biến thể pI cao.

Ví dụ 31

Các sự thay thế pI đã tăng cường khi kết hợp với biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb

Ảnh hưởng của sự đào thải của myostatin bởi biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb khi kết hợp với các sự thay thế tăng PI khác được đánh giá về Chuột chuyển gen Fc gama RIIb người. Chuột chuyển gen Fc gama RIIb người được phát sinh bởi sự tiêm tế bào của vectơ BAC (nhiễm sắc thể nhân tạo có vi khuẩn) chứa tất cả các exon của gen FCGR2B người trong nhân non của các trứng thụ tinh của C57BL/6N bởi các kỹ thuật tiêu chuẩn (xem, ví dụ, J. Immunol., 2015 Oct 1; 195(7): 3198-205). Chuột thiếu hụt Fc gama RIIb chuột được phát sinh sử dụng các nucleaza axit amin liên kết ADN và ARN (ZFNs) mà đã được thiết kế cho exon đích 1. Fc gama RIIb chuột được làm tương thích với người đã được thiết lập bằng cách lai giống Chuột chuyển gen Fc gama RIIb người với chuột KO Fc gama RIIb chuột. Sử dụng chuột này, sự kết hợp ảnh hưởng của sự tăng cường ái lực với Fc gama RIIb người và pI tăng cường đến sự đào thải của kháng nguyên hòa tan có thể được đánh giá.

Sự điều chế và hồ sơ của các biến thể thử nghiệm

Các kháng thể 7 được thử nghiệm và các hồ sơ gắn kết của chúng được tóm tắt ở Bảng 27. Chuỗi nặng, MS103205H795-MY352, MS103205H795-PK55, MS103205H795-PK56, MS103205H795-PK57, được điều chế bằng cách đưa vào các sự thay thế tăng pI Q311R/D413R, Q311R/P343R, Q311R/P343R/D413R, Q311R/N384R/D413R, tương ứng trong MS103205H795-MY201. Tất cả các biến thể MS1032LO06 được biểu hiện với M103202L889-SK1 như chuỗi nhẹ theo phương pháp được thể hiện trong Ví dụ 30 và các ái lực của chúng với các xynoFc gama R và Fc gama R người được đánh giá sử dụng phương pháp trong Ví dụ 27.

Bảng 27

				KD (M) đối với các xynoFcgR					KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các xynoFcgR (SG1=1)					Số lần KD đối với các FcgR (SG1=1) người			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID NO	Các thay thế	FcgRIIa 1	FcgRIIa 2	FcgRIIa 3	FcgRIIb	FcgRIIIaS	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIa V	FcgRIIa 1	FcgRIIa 2	FcgRIIa 3	FcgRIIb	FcgRIIIa S	FcgRIIa H	FcgRIIa R	FcgRII b	FcgRIIIa V
M103205H795 -SG1	SG1	9	-	4,8E-06	4,7E-06	8,6E-06	1,9E-06	2,8E-07	8,9E-07	1,0E-06	4,7E-06	6,2E-07	1,0	1,0	1,0	1,0	1,00	1,0	1,0	1,0	1,00
M103205H795 -MY201	MY201	231	G236N/H268D/A330K	1,5E-06	1,2E-06	1,8E-06	3,3E-07	3,7E-06	9,8E-07	1,2E-06	8,5E-07	3,7E-05	3,2	4,0	4,9	5,8	0,08	0,9	0,8	5,6	0,02
M103205H795 -MY351	MY351	232	G236N/H268D/Q311R/A330K/D413K	1,6E-06	1,3E-06	2,2E-06	3,8E-07	4,1E-06	1,2E-06	1,6E-06	9,7E-07	7,4E-06	3,0	3,6	4,0	5,0	0,07	0,7	0,6	4,9	0,08
M103205H795 -MY352	MY352	248	G236N/H268D/Q311R/A330K/D413R	1,7E-06	1,3E-06	2,2E-06	4,2E-07	4,0E-06	1,2E-06	1,6E-06	1,0E-06	1,1E-05	2,7	3,5	3,9	4,7	0,07	0,7	0,6	4,6	0,06
M103205H795 -PK55	PK55	249	G236N/H268D/Q311R/A330K/P343R	1,4E-06	1,2E-06	2,0E-06	3,6E-07	3,3E-06	8,3E-07	1,5E-06	7,6E-07	1,3E-05	3,3	4,1	4,3	5,4	0,08	1,1	0,7	6,3	0,05
M103205H795 -PK56	PK56	250	G236N/H268D/Q311R/A330K/P343R/D413R	1,8E-06	1,5E-06	2,5E-06	5,0E-07	4,4E-06	1,2E-06	1,9E-06	1,0E-06	1,0E-05	2,6	3,1	3,5	3,9	0,06	0,8	0,5	4,7	0,06
M103205H795 -PK57	PK57	251	G236N/H268D/Q311R/A330K/N384R/D413R	1,9E-06	1,7E-06	3,1E-06	5,2E-07	4,3E-06	1,3E-06	2,2E-06	1,2E-06	2,3E-05	2,5	2,8	2,7	3,8	0,06	0,7	0,5	4,1	0,03

49038

300/723

Dựa vào sự phân tích SPR được tóm tắt ở Bảng 27, đã được xác nhận rằng các sự thay thế tăng pI không ảnh hưởng đến gắn kết Fc gama R của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb. MY201 và MY351, mà được điều chế bằng cách đưa vào Q311R/D413K trong MY201, thể hiện 6-lần và 5-lần sự gắn kết Fc gama RIIb người được tăng cường, tương ứng. Đối với các xynoFc gama R và Fc gama R người khác, hầu hết chúng thể hiện hồ sơ gắn kết như nhau. Tương tự, MY352, PK55, PK56 và PK57 đã thể hiện hồ sơ gắn kết giống như với MY201 thể mẹ (Bảng 27). Điều này dẫn đến chỉ báo rằng hoặc cặp của các sự thay thế tăng pI không ảnh hưởng đến các ái lực kháng lại các xynoFc gama R và Fc gama R người.

Nghiên cứu PK trong chuột chuyển gen Fc gama RIIb người

Thử nghiệm *in vivo* sử dụng chuột chuyển gen Fc gama RIIb người

Sự đào thải myostatin và kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được đánh giá *in vivo* trong khi đồng cung cấp kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn người trong chuột chuyển gen Fc gama RIIb người trong đó chuột Fc gama RII được thế với Fc gama RIIb người. Kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn (0,3 mg/ml) và Myostatin tiềm ẩn (0,05 mg/ml) được cung cấp ở liều riêng lẻ là 10 ml/kg trong tĩnh mạch đuôi. Huyết được gom ở 5 phút, 1 giờ, 4 giờ, 7 giờ, 1 ngày, 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày, và 28 ngày sau khi cung cấp. Huyết được gom được phân ly ngay tức thì ở 15.000 vòng/phút trong 4 °C trong 5 phút để tách huyết tương. Huyết tương được tách được bảo quản ở hoặc dưới -20 °C cho đến khi đo. Các kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn được sử dụng là MS1032LO06-SG1, MS1032LO06-MY201, MS1032LO06-MY351, MS1032LO06-MY352, MS1032LO06-PK55, MS1032LO06-PK56 và MS1032LO06-PK57.

Đo tổng nồng độ myostatin trong huyết tương bằng miễn dịch điện hóa phát quang

Nồng độ của tổng myostatin trong huyết tương chuột được đo bằng miễn dịch điện hóa phát quang (ECL) như được mô tả trong Ví dụ 28. Tiến trình thời gian của tổng nồng độ myostatin trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của

kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 29.

Đo nồng độ kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA)

Nồng độ của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn trong huyết tương chuột được đo bằng ELISA. IgG kháng người (chuỗi gama đặc hiệu) mảnh kháng thể F(ab')2 (Sigma) được phân phối trên Nunc-ImmunoPlate MaxiSorp (Nalge Nunc International) và được giữ nguyên trạng thái qua đêm ở 4 °C để điều chế các đĩa được cố định IgG kháng người. Đường cong hiệu chỉnh các mẫu có các nồng độ huyết tương là 2,5, 1,25, 0,625, 0,313, 0,156, 0,078, và 0,039 micro g/ml, và các mẫu huyết tương chuột được pha loãng 100-lần hoặc nhiều hơn được điều chế. Sau đó, các mẫu được phân phối trên các đĩa được cố định IgG kháng người, và được giữ nguyên trạng thái trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, IgG người kháng dê (chuỗi gama đặc hiệu) tiếp hợp sinh tố H (Southern Biotech) được bổ sung để phản ứng lại trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, Streptavidin-PolyHRP80 (Stereospecific Detection Technologies) được bổ sung để phản ứng lại trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng, và phản ứng của thể nhiễm sắc được thực hiện sử dụng TMB One Component HRP Microwell Subtrate (BioFX Laboratories) như một chất nền. Sau khi dừng phản ứng với 1 N axit sulfuric (Showa Chemical), khả năng hút ở 450 nm được đo bằng đầu đọc vi đĩa. Nồng độ trong huyết tương chuột được tính toán từ khả năng hút của đường cong hiệu chỉnh sử dụng phần mềm phân tích SOFTmax PRO (Molecular Devices). Tiến trình thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương sau khi cung cấp trong tĩnh mạch của kháng thể kháng myostatin tiềm ẩn và myostatin tiềm ẩn được đo bằng phương pháp này được thể hiện ở Fig. 30.

Ảnh hưởng của pI và Fc gama R gắn kết lên nồng độ myostatin *in vivo*

Sau khi cung cấp MS1032LO06-MY201, tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 7 giờ được giảm 8 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Ngược lại, sau khi cung cấp của MS1032LO06-PK57, tổng nồng độ myostatin huyết tương

ở 7 giờ được giảm 376 lần so với tổng nồng độ myostatin huyết tương ở 5 phút. Các biến thể pI cao khác đã thể hiện sự tăng cường tương tự sự đào thải myostatin ra khỏi huyết tương. Nồng độ kháng thể của các biến thể pI cao ở 28 ngày được giảm 2-3 lần so với nồng độ kháng thể của MS1032LO06-SG1, và các biến thể PI đã thể hiện sự tăng cường yếu sự đào thải kháng thể ra khỏi huyết tương.

Các biến thể pI cao có điện tích dương nhiều hơn trong huyết tương. Do điện tích dương này tương tác với bề mặt tế bào của điện tích âm, phức hợp kháng nguyên-kháng thể thể miễn dịch của các biến thể pI cao gần hơn với bề mặt tế bào, đã dẫn đến tăng cường sự hấp phụ tế bào của phức hợp kháng nguyên-kháng thể thể miễn dịch của các biến thể pI cao.

Ví dụ 32

Sự phát triển của các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb người

Các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb người với vùng biến đổi kháng myostatin được dựng và ái lực của chúng đối với các Fc gama R người được đánh giá. Cụ thể là, các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb người được dựng bằng cách đưa vào các sự thay thế trong MS103240H795-SG1 (VH, SEQ ID NO: 92; CH, SEQ ID NO: 9) với sự kết hợp các sự thay thế T250V/T307P. Ngoài ra, các sự thay thế (Q311R/D413K hoặc Q311R/P343R) cũng được đưa vào. Các biến thể được biểu hiện sử dụng M103202L1045-SK1 như chuỗi nhẹ và ái lực của chúng với các Fc gama R người được phân tích theo phương pháp được thể hiện trong Ví dụ 34. Bảng 28 thể hiện kết quả của sự phân tích động lực kháng lại các xynoFc gama R và Fc gama R người. Các giá trị KD trong các tế bào được lấp đầy chất màu xám được tính toán sử dụng [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để được xác định chính xác bằng sự phân tích động lực.

Tất cả các biến thể được đánh giá đã thể hiện ái lực được tăng cường cho Fc gama RIIb người và sự gắn kết giảm với Fc gama RIIaR người, Fc gama RIIaH, Fc gama RIIIaV so với SG1. Ái lực cho Fc gama RIIb người thay đổi giữa 4,1-lần và

30,5-lần tăng cường so với SG1. Ái lực cho Fc gama RIIaR người là giữa 0,02-lần và 0,22-lần. Các ái lực cho Fc gama RIIaH người và Fc gama RIIIaV người là nhỏ hơn 0,04-lần và 0,012-lần, tương ứng. Nó đã bộc lộ rằng các sự thay thế (T250V/T307P) không gây ảnh hưởng đến hồ sơ gắn kết với các Fc gama R người bằng cách so sánh các ái lực của MY009 (P238D) và MY214 (P238D/T250V/T307P). Mặt khác, cả hai cặp thay thế tăng PI (Q311R/D413K và Q311R/P343R) được giảm ái lực gắn kết khoảng 0,5-lần so với các biến thể không chứa các sự thay thế tăng PI. Ví dụ, mặc dù TT14 đã thể hiện ái lực cao hơn 30,5-lần với Fc gama RIIb người, nó chỉ thể hiện tăng 16,1-lần và 14,5-lần khi kết hợp với Q311R/D413K (TT33) và Q311R/P343R (TT32), tương ứng.

Hơn thế nữa, các sự thay thế được sử dụng ở Ví dụ 29 để cải thiện chu kỳ bán thải kháng thể và làm giảm việc gắn kết với nhân tố bệnh thấp khớp được đưa vào trong các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb người và ái lực của chúng kháng các Fc gama R người được phân tích (Bảng 29). Trong phân tích SPR này, toàn bộ dữ liệu đã thu được sử dụng chuỗi nhẹ kapa IgG người kháng chuột để bắt giữ các kháng thể liên quan. Bảng 30 thể hiện kết quả và các giá trị KD trong các tế bào được lấp đầy chất màu xám được tính toán sử dụng [Phương trình 2] do ái lực của chúng là quá yếu để được xác định chính xác bằng sự phân tích động lực.

Bảng 28

Cơ sở dữ liệu gắn kết của biến thể được tăng cường Fc gama RIIb người

				KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID NO.	Các thay thế	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
MS103240H795-SG1	SG1	9	-	7,5E-07	1,1E-06	5,8E-06	8,1E-07	1,000	1,00	1,0	1,000
MS103240H795-MY009	MY009	252	P238D	7,3E-05	2,3E-05	1,3E-06	2,2E-04	0,010	0,05	4,5	0,004
MS103240H795-MY214	MY214	253	P238D/T250V/T307P	3,2E-05	2,1E-05	1,0E-06	1,5E-04	0,023	0,05	5,8	0,005
MS103240H795-TT08	TT08	254	P238D/T250V/T307P/A330K	5,5E-05	1,6E-05	6,8E-07	9,6E-05	0,014	0,07	8,5	0,008
MS103240H795-TT09	TT09	255	P238D/T250V/V264I/T307P/A330K	4,4E-05	1,4E-05	2,9E-07	1,7E-04	0,017	0,08	20,0	0,005
MS103240H795-TT10	TT10	256	P238D/T250V/S267A/T307P/A330K	5,6E-05	8,7E-06	6,3E-07	7,9E-04	0,013	0,13	9,2	0,001
MS103240H795-TT11	TT11	257	L234Y/P238D/T250V/T307P/A330K	2,4E-05	1,0E-05	5,2E-07	1,7E-04	0,031	0,11	11,2	0,005
MS103240H795-TT12	TT12	258	L234Y/P238D/T250V/S267A/T307P/A330K	2,0E-05	5,0E-06	4,9E-07	1,3E-04	0,038	0,22	11,8	0,006
MS103240H795-TT13	TT13	259	P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/A330K	4,5E-05	9,8E-06	3,2E-07	1,4E-04	0,017	0,11	18,1	0,006
MS103240H795-TT14	TT14	260	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K	1,8E-05	7,6E-06	1,9E-07	1,5E-04	0,042	0,14	30,5	0,005
MS103240H795-TT15	TT15	261	L234Y/P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/A330K	2,9E-05	6,1E-06	2,5E-07	1,3E-04	0,026	0,18	23,2	0,006
MS103240H795-TT20	TT20	262	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/P343R	9,1E-05	2,8E-05	1,4E-06	8,4E-05	0,008	0,04	4,1	0,010
MS103240H795-TT21	TT21	263	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/D413K	5,6E-05	2,0E-05	1,3E-06	8,5E-05	0,013	0,06	4,5	0,010
MS103240H795-TT22	TT22	264	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R	6,0E-05	2,1E-05	5,9E-07	7,2E-05	0,013	0,05	9,8	0,011

				KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID NO.	Các thay thế	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
MS103240H795-TT23	TT23	265	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K	1,0E-04	4,8E-05	5,5E-07	4,5E-04	0,007	0,02	10,5	0,002
MS103240H795-TT24	TT24	266	P238D/T250V/S267A/T307P/Q311R/A330K/P343R	4,9E-05	1,3E-05	1,2E-06	2,6E-04	0,015	0,08	4,8	0,003
MS103240H795-TT25	TT25	267	P238D/T250V/S267A/T307P/Q311R/A330K/D413K	2,2E-05	1,3E-05	1,0E-06	1,4E-04	0,034	0,08	5,8	0,006
MS103240H795-TT26	TT26	268	L234Y/P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/P343R	6,9E-05	2,1E-05	1,1E-06	2,0E-04	0,011	0,05	5,3	0,004
MS103240H795-TT27	TT27	269	L234Y/P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/D413K	5,2E-05	1,4E-05	8,2E-07	1,3E-04	0,014	0,08	7,1	0,006
MS103240H795-TT28	TT28	270	L234Y/P238D/T250V/S267A/T307P/Q311R/A330K/P343R	4,8E-05	7,7E-06	8,5E-07	8,2E-05	0,016	0,14	6,8	0,010
MS103240H795-TT29	TT29	271	L234Y/P238D/T250V/S267A/T307P/Q311R/A330K/D413K	3,7E-05	7,5E-06	8,1E-07	8,9E-05	0,020	0,15	7,2	0,009
MS103240H795-TT30	TT30	272	P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/Q311R/A330K/P343R	1,5E-04	1,4E-05	5,7E-07	6,6E-05	0,005	0,08	10,2	0,012
MS103240H795-TT31	TT31	273	P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/Q311R/A330K/D413K	1,1E-04	1,9E-05	5,6E-07	2,9E-04	0,007	0,06	10,4	0,003
MS103240H795-TT32	TT32	274	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R	5,0E-05	1,2E-05	4,0E-07	1,1E-04	0,015	0,09	14,5	0,007
MS103240H795-TT33	TT33	275	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K	4,2E-05	1,2E-05	3,6E-07	4,4E-04	0,018	0,09	16,1	0,002
MS103240H795-TT34	TT34	276	L234Y/P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/Q311R/A330K/P343R	2,2E-05	8,9E-06	4,9E-07	9,6E-05	0,034	0,12	11,8	0,008
MS103240H795-TT35	TT35	277	L234Y/P238D/T250V/V264I/S267A/T307P/Q311R/A330K/D413K	2,5E-05	9,0E-06	4,3E-07	1,8E-04	0,030	0,12	13,5	0,004

49038

Bảng 29

Các trình tự axit amin của các vùng ổn định chuỗi nặng bao gồm các biến thể Fc được tăng cường-Fc gama RIIb người (được thể hiện như các SEQ ID NO)

CH	-	+N434A +Q438R +S440E	+N434A +Y436T +Q438R +S440E	+M428L +N434A +Y436T +Q438R +S440E	+M428L +N434A +Q438R +S440E
MY009	252	278	304	330	356
MY214	253	279	305	331	357
TT08	254	280	306	332	358
TT09	255	281	307	333	359
TT10	256	282	308	334	360
TT11	257	283	309	335	361
TT12	258	284	310	336	362
TT13	259	285	311	337	363
TT14	260	286	312	338	364
TT15	261	287	313	339	365
TT20	262	288	314	340	366
TT21	263	289	315	341	367
TT22	264	290	316	342	368
TT23	265	291	317	343	369
TT24	266	292	318	344	370
TT25	267	293	319	345	371
TT26	268	294	320	346	372
TT27	269	295	321	347	373
TT28	270	296	322	348	374
TT29	271	297	323	349	375
TT30	272	298	324	350	376
TT31	273	299	325	351	377
TT32	274	300	326	352	378
TT33	275	301	327	353	379
TT34	276	302	328	354	380
TT35	277	303	329	355	381

Bảng 30

Cơ sở dữ liệu gắn kết của biến thể được tăng cường Fc gama RIIb người

				KD (M) đối với các FcgR người				Số lần KD đối với các FcgR người (SG1=1)			
Tên chuỗi nặng	CH	SEQ ID NO.	Các thay thế	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV	FcgRIIaH	FcgRIIaR	FcgRIIb	FcgRIIIaV
MS103240H795-SG1	SG1	9	-	9,7E-07	1,2E-06	4,7E-06	7,2E-07	1,000	1,00	1,0	1,000
MS103240H795-TT33	TT33	275	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K	3,5E-05	2,3E-05	3,0E-07	4,0E-04	0,028	0,05	15,7	0,002
MS103240H795-TT66	TT66	288	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/P343R/N434A/Q438R/S440E	1,3E-04	3,2E-05	1,0E-06	5,9E-04	0,007	0,04	4,7	0,001
MS103240H795-TT67	TT67	340	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/P343R/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	1,2E-04	2,8E-05	1,2E-06	6,1E-04	0,008	0,04	3,9	0,001
MS103240H795-TT68	TT68	289	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/D413K/N434A/Q438R/S440E	2,1E-04	6,1E-05	9,6E-07	4,8E-04	0,005	0,02	4,9	0,001
MS103240H795-TT69	TT69	341	P238D/T250V/T307P/Q311R/A330K/D413K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	1,3E-04	3,4E-05	1,1E-06	5,3E-04	0,008	0,04	4,3	0,001
MS103240H795-TT70	TT70	290	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R/N434A/Q438R/S440E	7,2E-05	4,0E-05	3,7E-07	3,9E-04	0,013	0,03	12,7	0,002
MS103240H795-TT71	TT71	342	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	9,6E-05	2,7E-05	4,2E-07	4,0E-04	0,010	0,04	11,2	0,002
MS103240H795-TT72	TT72	291	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K/N434A/Q438R/S440E	7,9E-05	2,4E-05	4,0E-07	5,0E-04	0,012	0,05	11,8	0,001
MS103240H795-TT73	TT73	343	P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	7,4E-05	1,9E-05	4,2E-07	5,6E-04	0,013	0,06	11,2	0,001
MS103240H795-TT90	TT90	300	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R/N434A/Q438R/S440E	2,9E-05	2,5E-05	3,0E-07	3,6E-04	0,033	0,05	15,7	0,002
MS103240H795-TT91	TT91	352	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/P343R/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	4,6E-05	3,0E-05	3,2E-07	4,5E-04	0,021	0,04	14,7	0,002
MS103240H795-TT92	TT92	301	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K/N434A/Q438R/S440E	4,0E-05	2,0E-05	2,8E-07	4,9E-04	0,024	0,06	16,8	0,001
MS103240H795-TT93	TT93	353	L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/Q311R/A330K/D413K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	5,2E-05	2,4E-05	3,1E-07	4,7E-04	0,019	0,05	15,2	0,002

SG1 và TT33 được đánh giá lại về sự đo này trong đó phương pháp bắt giữ là khác với phương pháp ở Bảng 28. Kết quả là, các giá trị "lần KD" của TT33 là phù hợp với các giá trị này đã thu được với Bảng 28 (16,1-lần ở Bảng 28 và 15,7-lần ở Bảng 30 kháng Fc gama RIIb người). TT92 và TT93, mà được dựng bằng cách đưa vào N434A/Q438R/S440E và M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E trong TT33, đã thể hiện hồ sơ gắn kết tương đương với TT33. Tương tự, TT90 và TT91 có nguồn gốc từ TT32, TT72 và TT73 có nguồn gốc từ TT31, TT70 và TT71 có nguồn gốc từ TT30, TT68 và TT69 có nguồn gốc từ TT21, và TT66 và TT67 có nguồn gốc từ TT20 thể hiện hồ sơ gắn kết tương đương với các kháng thể mẹ của chúng được thể hiện ở Bảng 28. Các kết quả này chỉ ra rằng các sự thay thế để cải thiện chu kỳ bán thải kháng thể và làm giảm việc gắn kết với nhân tố gây bệnh phong thấp không ảnh hưởng đến hồ sơ gắn kết của các biến thể kháng các Fc gama R người được tăng cường Fc gama RIIb người.

Ví dụ 33

Phân tích ảnh tế bào của Các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb

Để đánh giá sự hấp thu nội bào của phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo thành bởi kháng thể được mô tả trong Ví dụ 32, thử nghiệm ảnh tế bào được mô tả trong Ví dụ 30 được thực hiện. Để chống lại sự bão hòa tín hiệu, các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được hình thành trong dung dịch cấy với nồng độ kháng thể là 1,25 mg/mL và nồng độ kháng nguyên là 0,34 mg/mL trong ví dụ này.

Các kết quả thử nghiệm được thể hiện ở Fig. 31. Bằng cách tăng cường ái lực gắn kết với Fc gama RIIb người, sự hấp thu tế bào của phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tăng cường. Trong trường hợp của TT14, mà được tăng cường ái lực gắn kết gấp 30 lần với Fc gama RIIb người so với SG1, cường độ phát huỳnh quang kháng nguyên bên trong các tế bào được tăng cường 7,5 lần như khi ở SG1.

Mặc dù các sự thay thế tăng pI (Q311R/D413K và Q311R/P343R) đã giảm ái lực gắn kết với Fc gama RIIb người khoảng 0,5-lần so với các biến thể không chứa các sự thay thế tăng pI, sự hấp phụ tế bào của phức hợp kháng nguyên kháng thể của các biến thể Fc với các sự thay thế tăng pI được tăng cường so với các biến thể Fc không có các sự thay thế tăng pI. TT33 thể hiện tăng 36 lần trong sự hấp thu kháng nguyên kháng thể trong các tế bào so với SG1, trong khi TT14 thể mẹ của nó thể hiện lần tăng 7,5 trong sự hấp thu tế bào. Hơn thế nữa, TT33 thể hiện sự hấp thu tế bào tương đương với phức hợp kháng nguyên-kháng thể trong các tế bào khi so với SG1071, SG1074, SG1077, SG1079, SG1080 và SG1081 mà thể hiện sự quét mạnh mẽ ở khỉ xynomolugus. Các kết quả này gợi ý rằng sự kết hợp của các sự thay thế tăng pI với các biến thể Fc được tăng cường Fc gama RIIb là công cụ có tác động mạnh đối với sự quét kháng nguyên.

Ví dụ 34

Cấu trúc của các vectơ biểu hiện kháng thể; và sự biểu hiện và sự tinh chế các kháng thể

Sự tổng hợp của toàn bộ độ dài các gen mã hóa các trình tự nucleotit của chuỗi H và chuỗi L của các vùng biến đổi kháng thể được thực hiện bằng các phương pháp sản xuất đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sử dụng kỹ thuật lắp ráp PCR và tương tự. Sự đưa vào các sự thay thế axit amin được thực hiện bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sử dụng PCR hoặc tương tự. Một phần plasmit đã thu được được chèn vào trong vectơ biểu hiện tế bào động vật, và vectơ biểu hiện chuỗi H và vectơ biểu hiện chuỗi L được tạo ra. Trình tự nucleotit của vectơ biểu hiện đã thu được được xác định bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các plasmit tạo ra được đưa vào tạm thời trong dòng tế bào HEK293H có nguồn gốc từ các tế bào ung thư thận thai người (Invitrogen) hoặc trong các tế bào FreeStyle293 (Invitrogen) cho sự biểu hiện kháng thể. Dịch nổi cấy đã thu được được gom, và sau đó được cho qua

0,22 micro mét dụng cụ lọc MILLEX(R)-GV (Millipore), hoặc qua 0,45 micro mét dụng cụ lọc MILLEX(R)-GV (Millipore) để thu được dịch nổi cấy. Các kháng thể được tinh chế từ dịch nổi cấy thu được bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sử dụng rProtein A Sepharose Fast Flow (GE Healthcare) hoặc Protein G Sepharose 4 Fast Flow (GE Healthcare). Đối với nồng độ của các kháng thể được tinh chế, khả năng hút của chúng ở 280 nm được đo sử dụng máy đo ảnh phổ. Từ giá trị đã thu được, hệ số tiêu hủy được tính toán bằng các phương pháp như PACE được sử dụng để tính toán nồng độ kháng thể (Protein Sci. 4:2411-2423 (1995)).

Mặc dù sáng chế đã từng được mô tả trên đây ở một vài chi tiết bằng cách mô tả và ví dụ nhằm mục đích làm rõ việc lý giải thông tin nhận được, các nội dung mô tả và các ví dụ không nhằm mục đích giới hạn phạm vi theo sáng chế. Sự bộc lộ tất cả các patent và tài liệu khoa học được dẫn chứng ở đây được thể hiện bằng cách viện dẫn toàn bộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm dược bao gồm kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong điều trị các bệnh nhão cơ, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 86 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(b) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 87 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(c) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 88 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(d) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 89 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(e) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 90 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(f) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 91 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(g) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 92 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(h) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 93 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(i) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 94 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97; hoặc

(j) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 95 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97.

2. Chế phẩm dược bao gồm kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm tăng khối lượng mô cơ, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 86 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(b) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 87 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(c) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 88 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(d) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 89 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(e) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 90 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(f) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 91 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(g) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 92 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(h) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 93 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(i) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 94 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97; hoặc

(j) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 95 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97.

3. Chế phẩm dược bao gồm kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm tăng sức mạnh mô cơ, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 86 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(b) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 87 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(c) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 88 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(d) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 89 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(e) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 90 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(f) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 91 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(g) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 92 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(h) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 93 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(i) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 94 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97; hoặc

(j) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 95 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97.

4. Chế phẩm dược bao gồm kháng thể gắn kết với myostatin tiềm ẩn để sử dụng trong việc làm giảm sự tích tụ mỡ trong cơ thể, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 86 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(b) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 87 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(c) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 88 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(d) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 89 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(e) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 90 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(f) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 91 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 96;

(g) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 92 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

(h) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 93 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97;

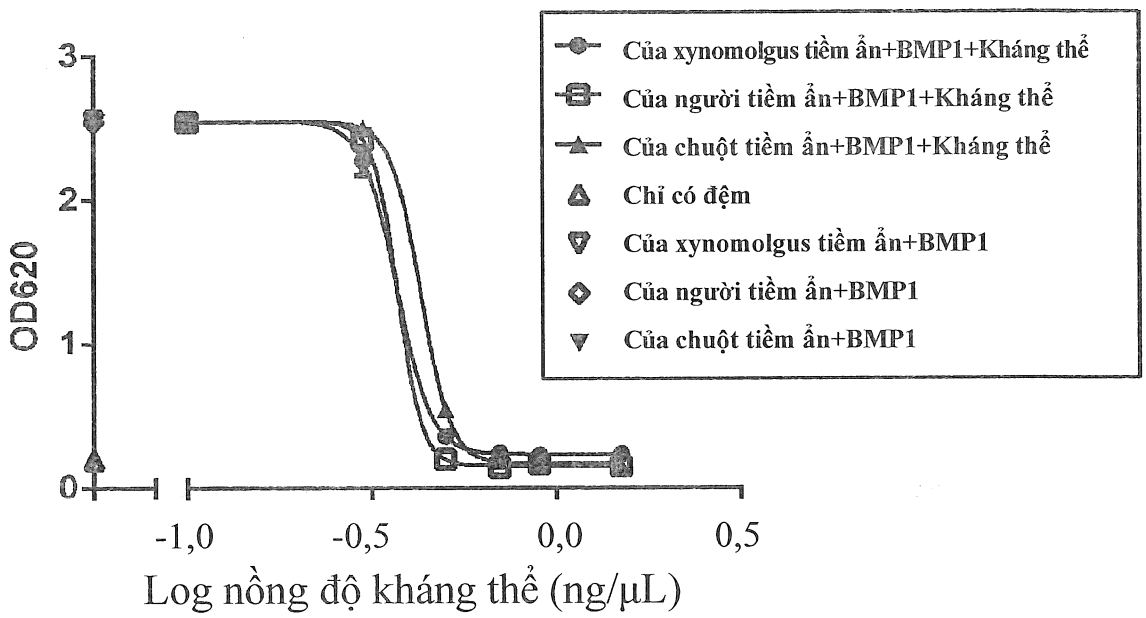
(i) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 94 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97; hoặc

(j) trình tự VH nêu trong SEQ ID NO: 95 và trình tự VL nêu trong SEQ ID NO: 97.

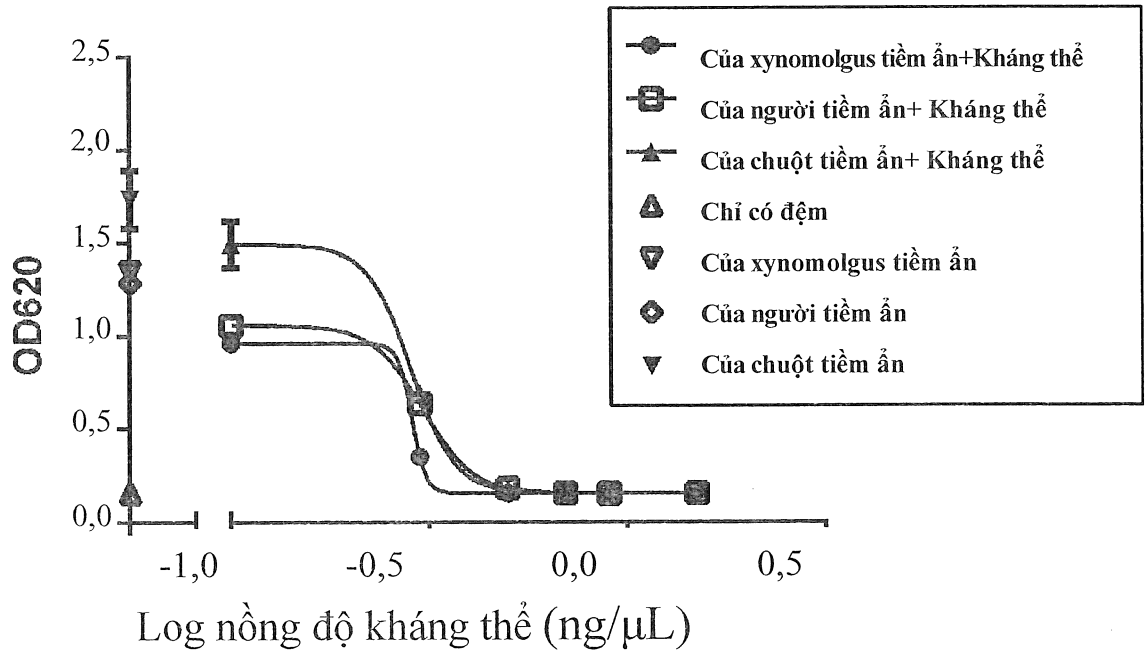
5. Chế phẩm dược theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó kháng thể này bao gồm vùng ổn định chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 352, và vùng ổn định chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10.

6. Chế phẩm dược theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó kháng thể này là kháng thể IgG có chiều dài đầy đủ.

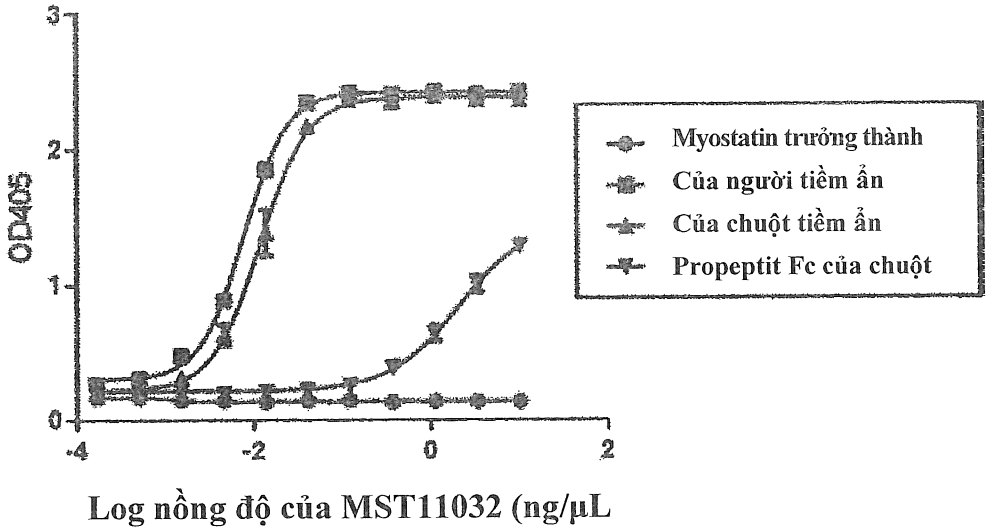
[Fig. 1]


Của xynomolgus tiềm ẩn+BMP1+Kháng thể
Của người tiềm ẩn+BMP1+Kháng thể
Của chuột tiềm ẩn+BMP1+Kháng thể
Chỉ có đệm
Của xynomolgus tiềm ẩn+BMP1
Của người tiềm ẩn+BMP1
Của chuột tiềm ẩn+BMP1
OD620
3
2
1
0
-1,0
-0,5
0,0
0,5
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)

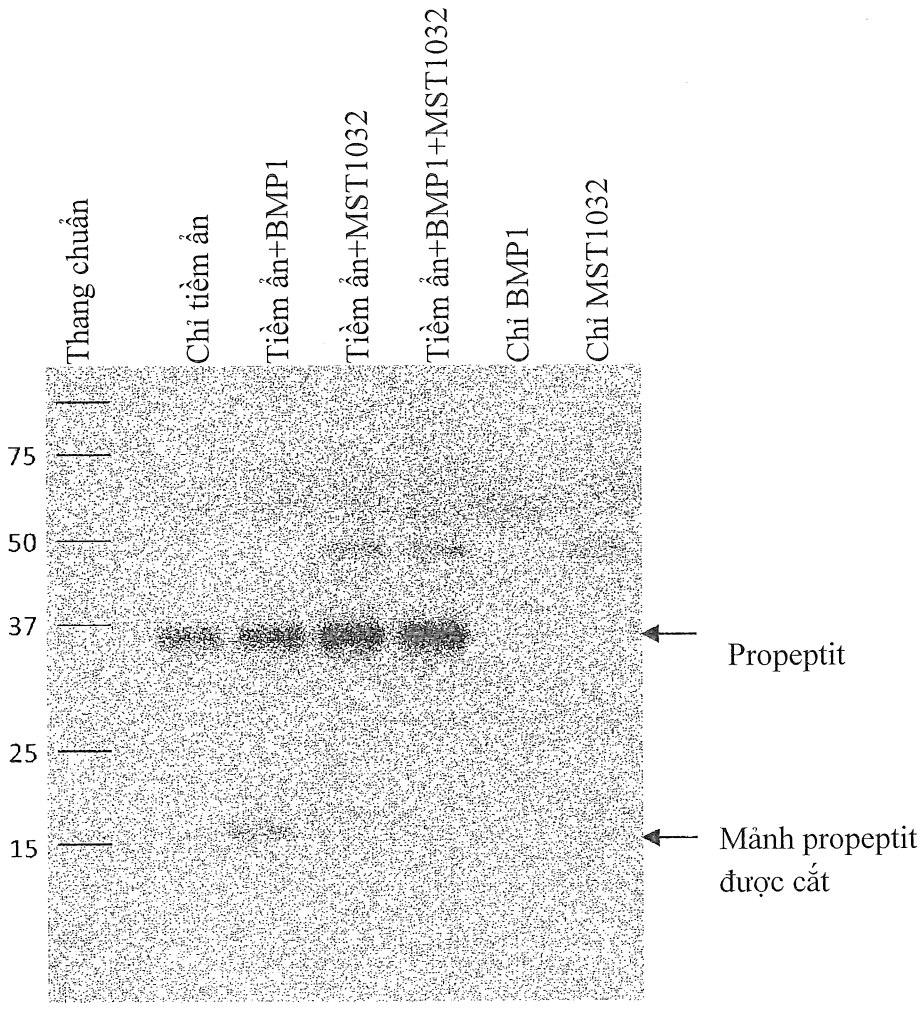
[Fig. 2]


Của xynomolgus tiềm ẩn+Kháng thể
Của người tiềm ẩn+ Kháng thể
Của chuột tiềm ẩn+ Kháng thể
Chỉ có đệm
Của xynomolgus tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn
Của chuột tiềm ẩn
OD620
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
-1,0
-0,5
0,0
0,5
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)

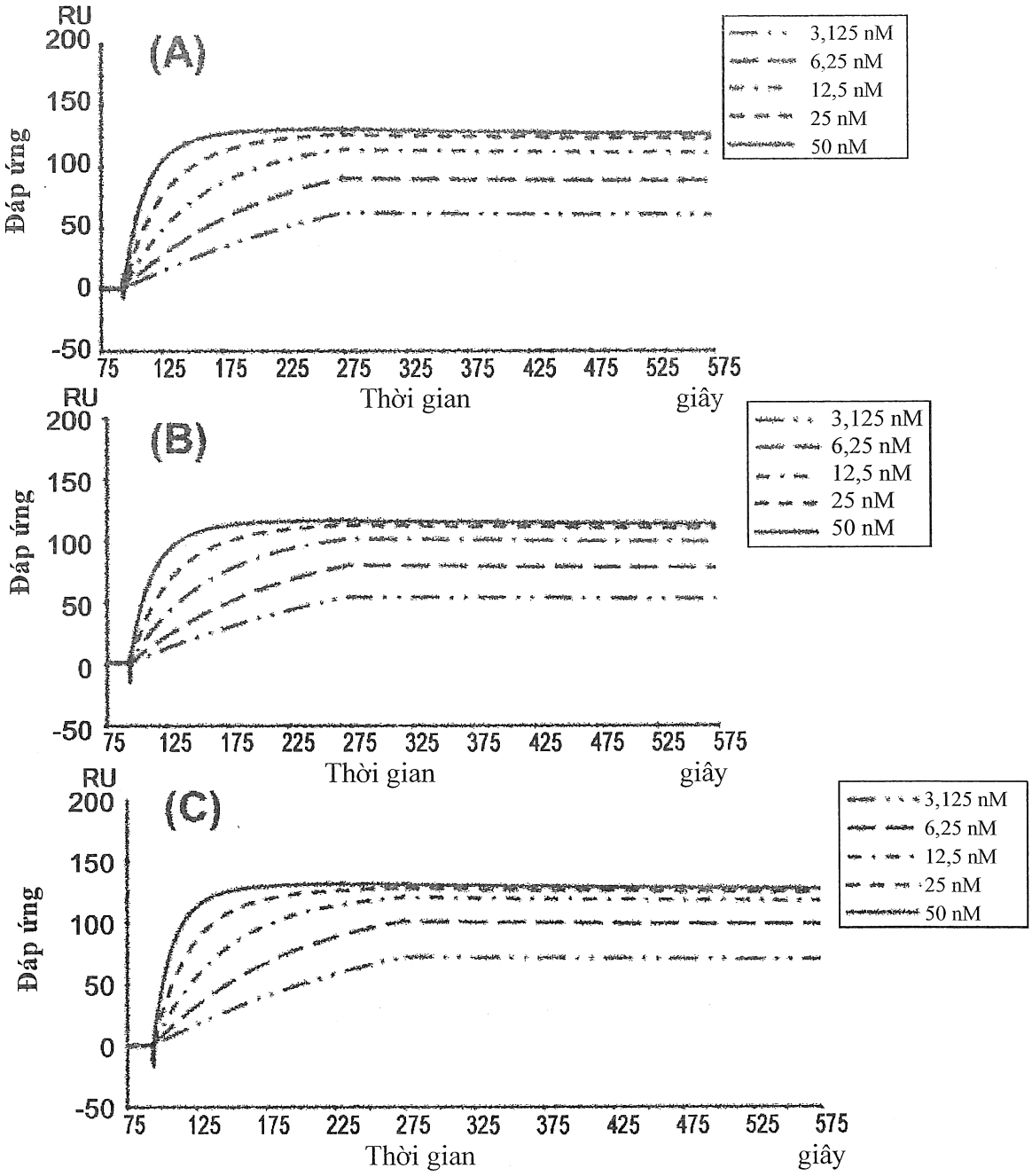
[Fig. 3]



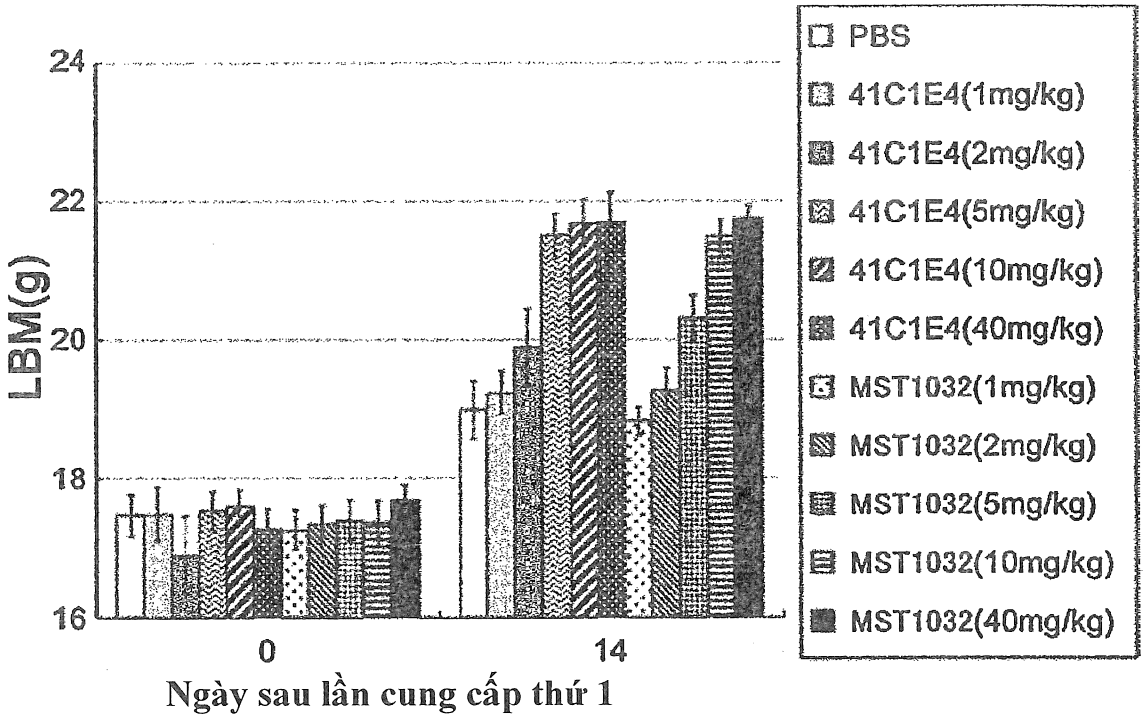
[Fig. 4]



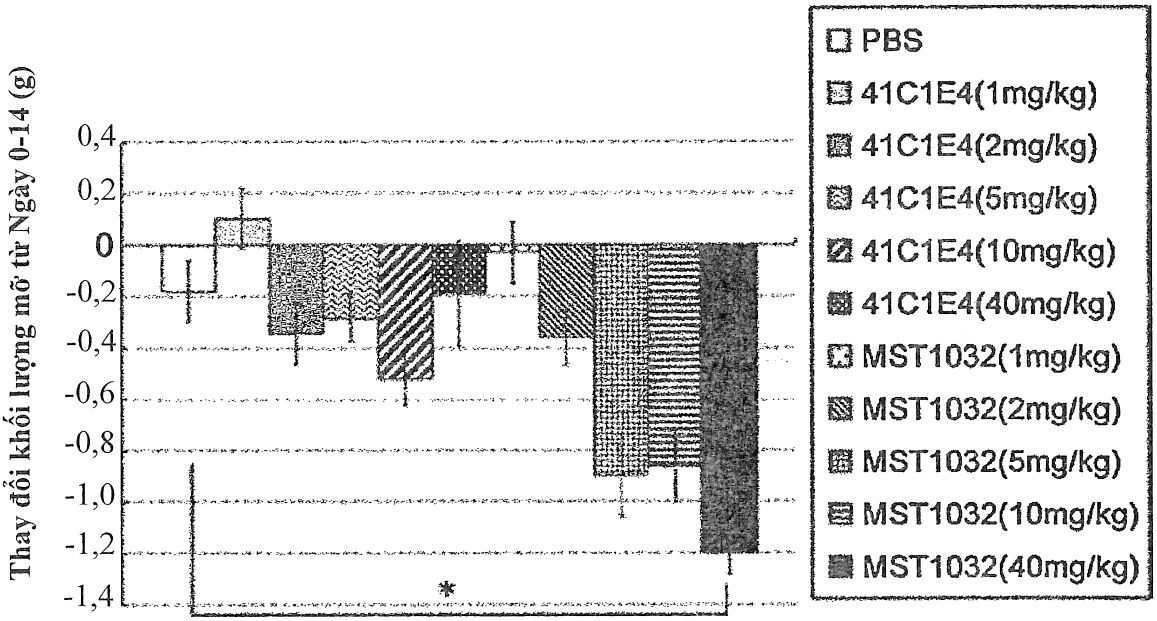
[Fig. 5]


RU
200
150
100
50
0
-50
(A)
Đáp ứng
75 125 175 225 275 325 375 425 475 525 575
Thời gian
giây
3,125 nM
6,25 nM
12,5 nM
25 nM
50 nM
RU
200
150
100
50
0
-50
(B)
Đáp ứng
75 125 175 225 275 325 375 425 475 525 575
Thời gian
giây
3,125 nM
6,25 nM
12,5 nM
25 nM
50 nM
RU
200
150
100
50
0
-50
(C)
Đáp ứng
75 125 175 225 275 325 375 425 475 525 575
Thời gian
giây
3,125 nM
6,25 nM
12,5 nM
25 nM
50 nM

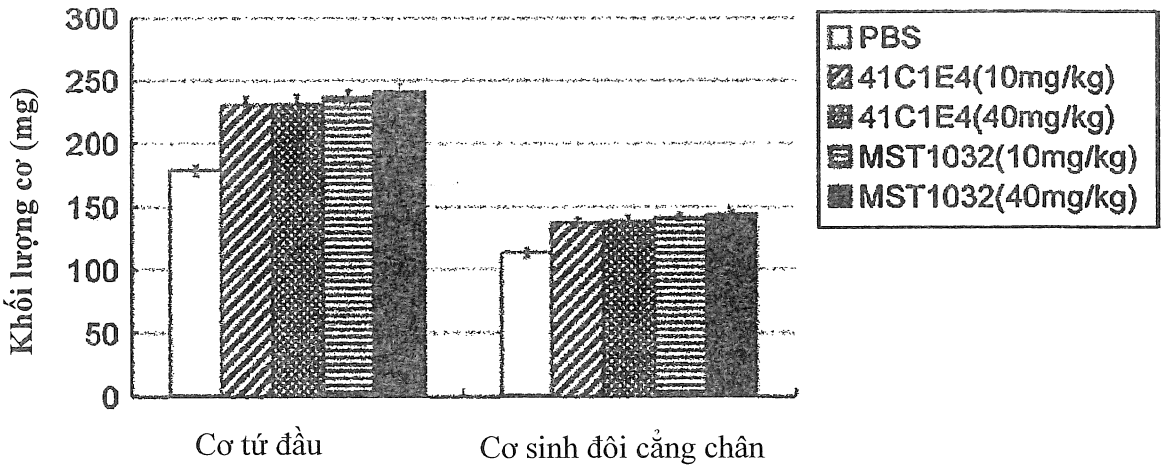
[Fig. 6A]


LBM(g)
24
22
20
18
16
0
14
Ngày sau lần cung cấp thứ 1
PBS
41C1E4(1mg/kg)
41C1E4(2mg/kg)
41C1E4(5mg/kg)
41C1E4(10mg/kg)
41C1E4(40mg/kg)
MST1032(1mg/kg)
MST1032(2mg/kg)
MST1032(5mg/kg)
MST1032(10mg/kg)
MST1032(40mg/kg)

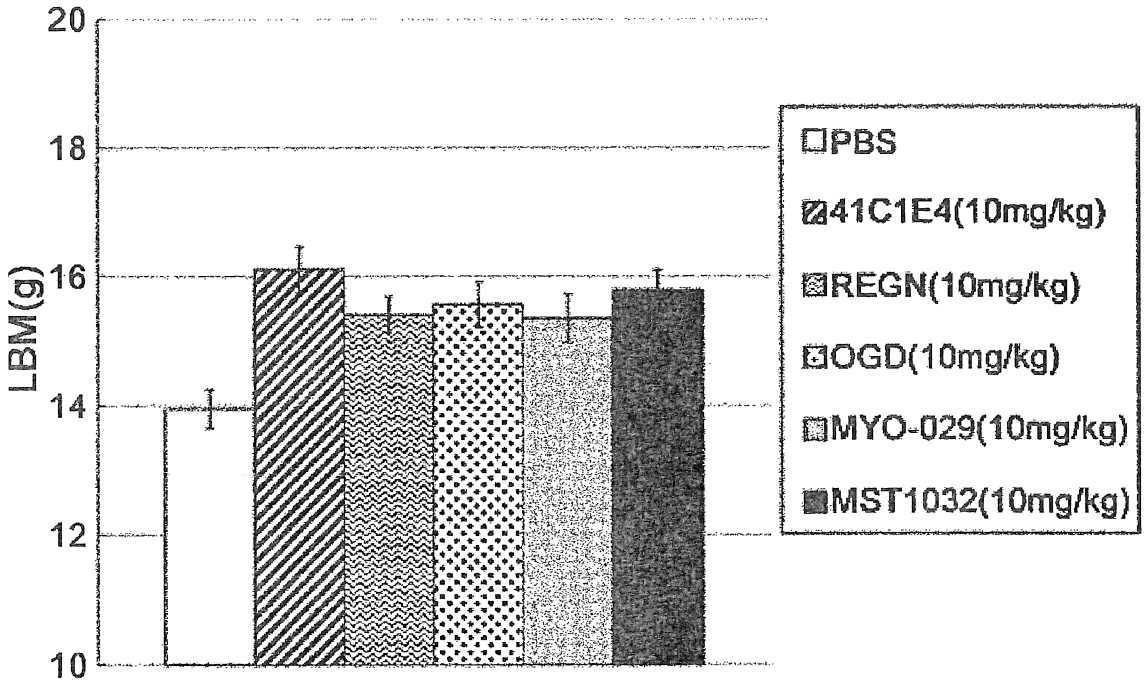
[Fig. 6B]


Thay đổi khối lượng mỡ từ Ngày 0-14 (g)
0,4
0,2
0
-0,2
-0,4
-0,6
-0,8
-1,0
-1,2
-1,4
*
PBS
41C1E4(1mg/kg)
41C1E4(2mg/kg)
41C1E4(5mg/kg)
41C1E4(10mg/kg)
41C1E4(40mg/kg)
MST1032(1mg/kg)
MST1032(2mg/kg)
MST1032(5mg/kg)
MST1032(10mg/kg)
MST1032(40mg/kg)

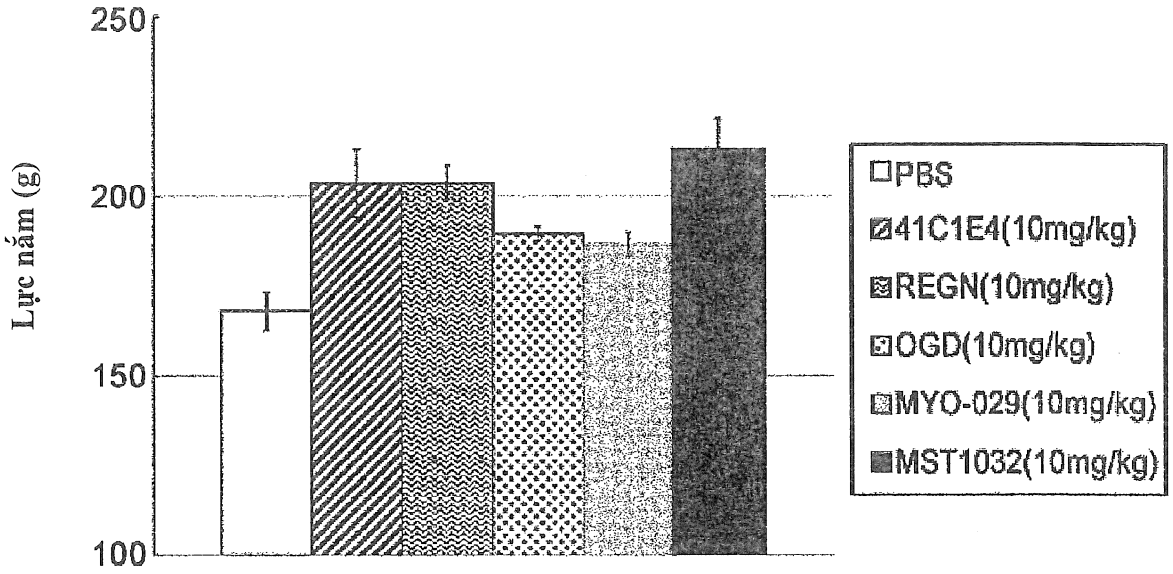
[Fig. 6C]


300
250
200
150
100
50
0
Khối lượng cơ (mg)
PBS
41C1E4(10mg/kg)
41C1E4(40mg/kg)
MST1032(10mg/kg)
MST1032(40mg/kg)
Cơ tứ đầu
Cơ sinh đôi cẳng chân

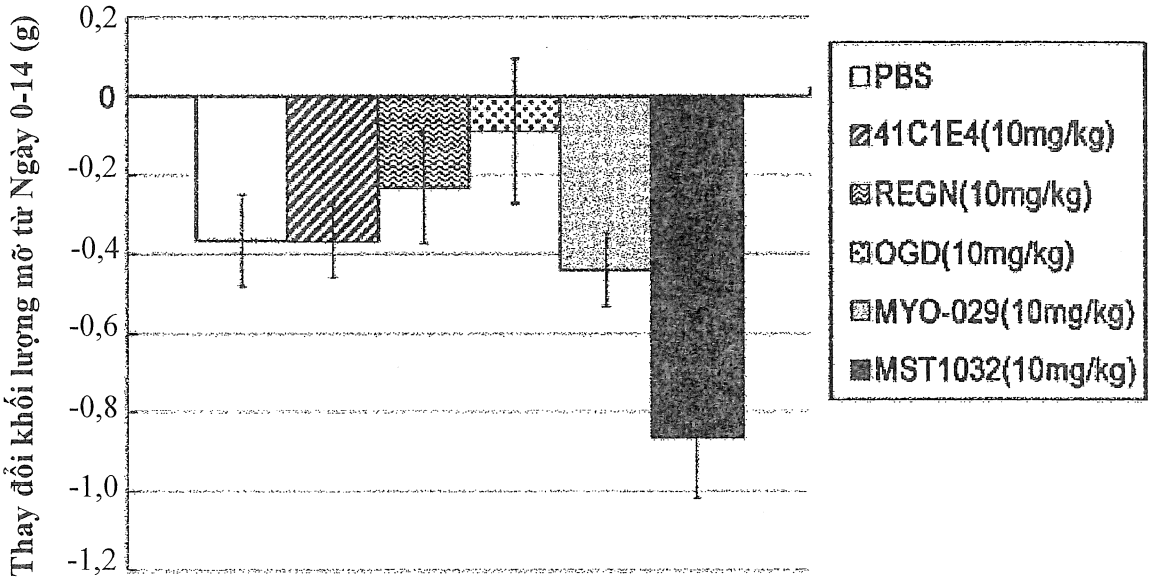
[Fig. 7A]


20
18
16
14
12
10
LBM(g)
PBS
41C1E4(10mg/kg)
REGN(10mg/kg)
OGD(10mg/kg)
MYO-029(10mg/kg)
MST1032(10mg/kg)

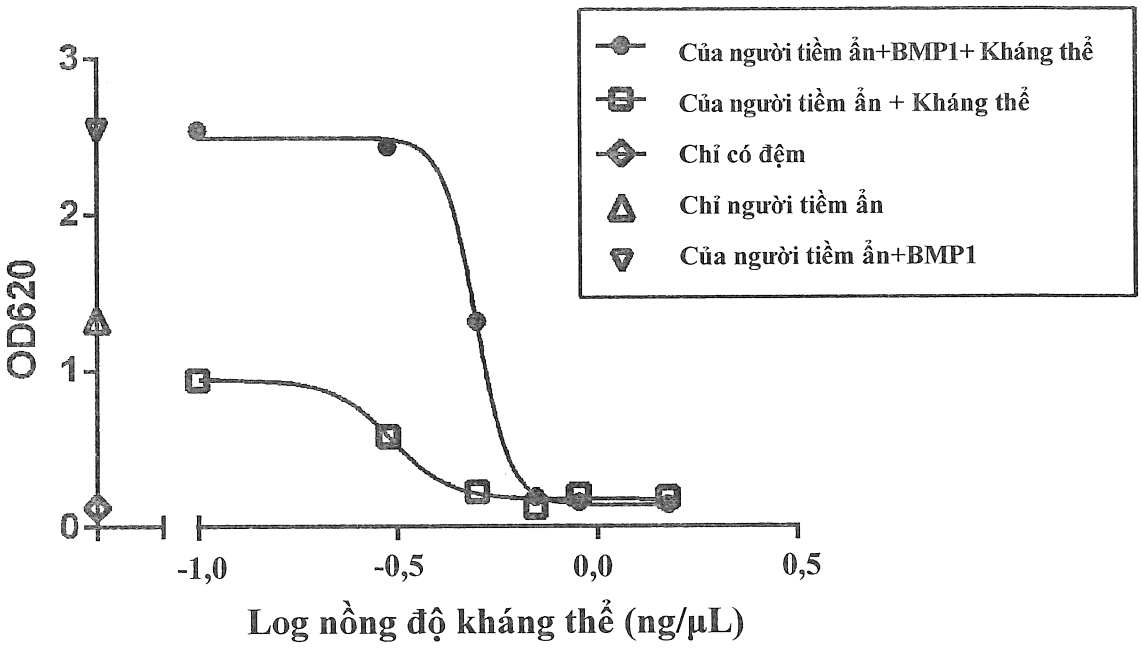
[Fig. 7B]


250
200
150
100
Lực nắm (g)
PBS
41C1E4(10mg/kg)
REGN(10mg/kg)
OGD(10mg/kg)
MYO-029(10mg/kg)
MST1032(10mg/kg)

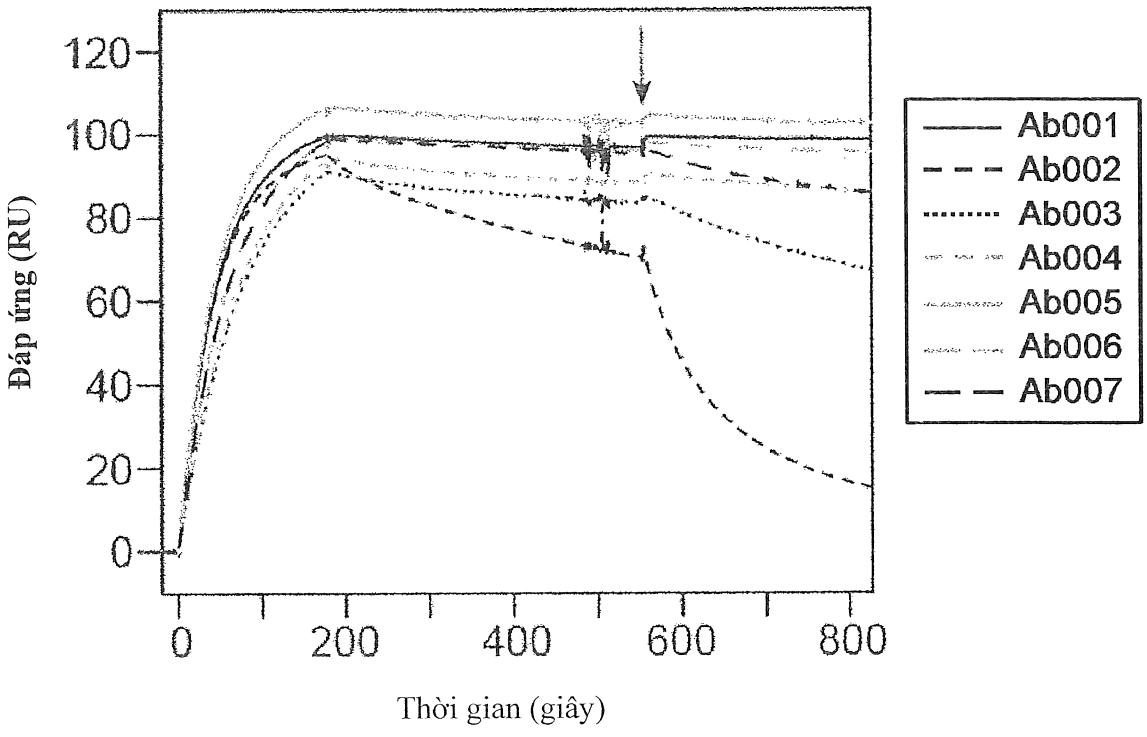
[Fig. 7C]


0,2
0
-0,2
-0,4
-0,6
-0,8
-1,0
-1,2
Thay đổi khối lượng mỡ từ Ngày 0-14 (g)
PBS
41C1E4(10mg/kg)
REGN(10mg/kg)
OGD(10mg/kg)
MYO-029(10mg/kg)
MST1032(10mg/kg)

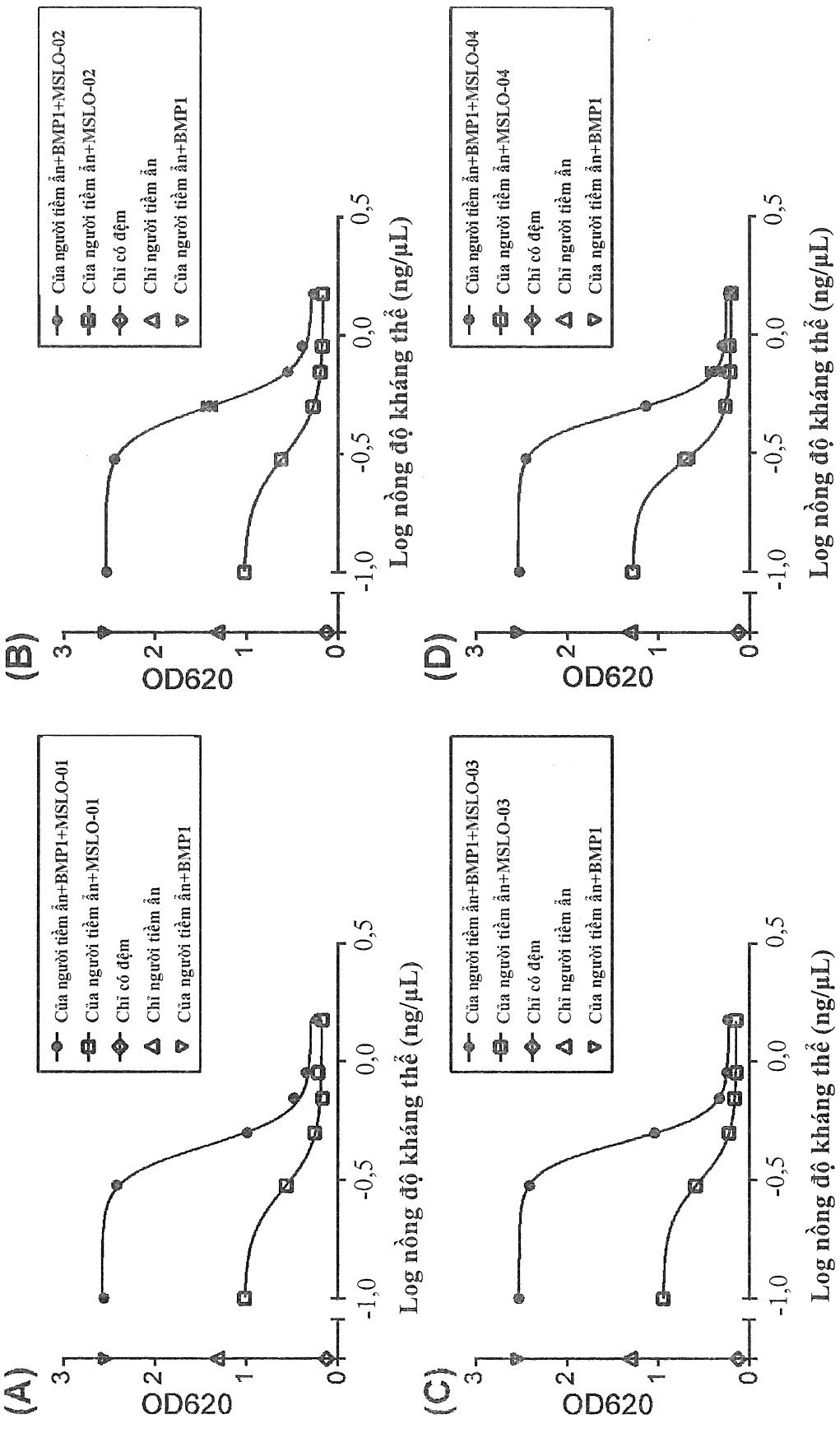
[Fig. 8]


Của người tiềm ẩn+BMP1+ Kháng thể
Của người tiềm ẩn + Kháng thể
Chỉ có đệm
Chỉ người tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn+BMP1
OD620
3
2
1
0
-1,0
-0,5
0,0
0,5
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)

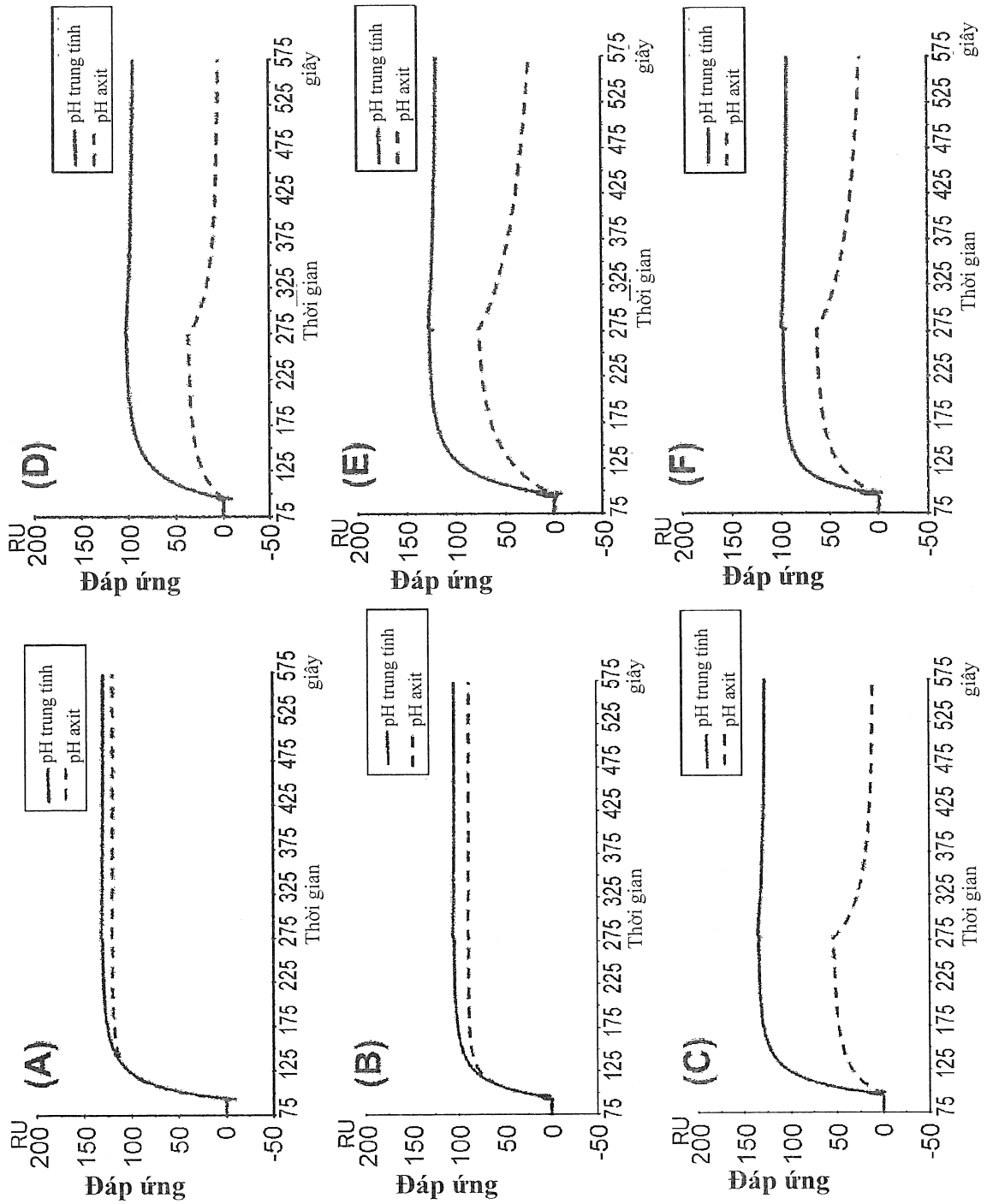
[Fig. 9]


Đáp ứng (RU)
120
100
80
60
40
20
0
0
200
400
600
800
Thời gian (giây)
Ab001
Ab002
Ab003
Ab004
Ab005
Ab006
Ab007

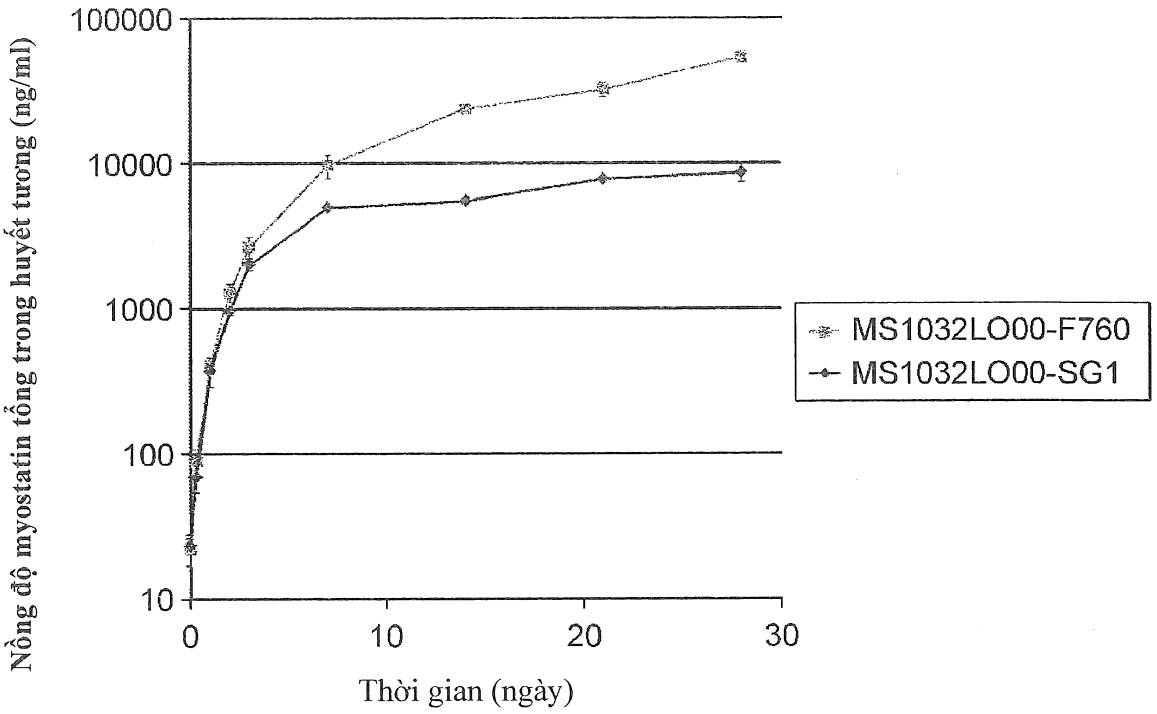
[Fig. 10]


(A)
Của người tiềm ẩn+BMP1+MSLO-01
Của người tiềm ẩn+MSLO-01
Chỉ có đệm
Chỉ người tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn+BMP1
OD620
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)
(B)
Của người tiềm ẩn+BMP1+MSLO-02
Của người tiềm ẩn+MSLO-02
Chỉ có đệm
Chỉ người tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn+BMP1
OD620
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)
(C)
Của người tiềm ẩn+BMP1+MSLO-03
Của người tiềm ẩn+MSLO-03
Chỉ có đệm
Chỉ người tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn+BMP1
OD620
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)
(D)
Của người tiềm ẩn+BMP1+MSLO-04
Của người tiềm ẩn+MSLO-04
Chỉ có đệm
Chỉ người tiềm ẩn
Của người tiềm ẩn+BMP1
OD620
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)

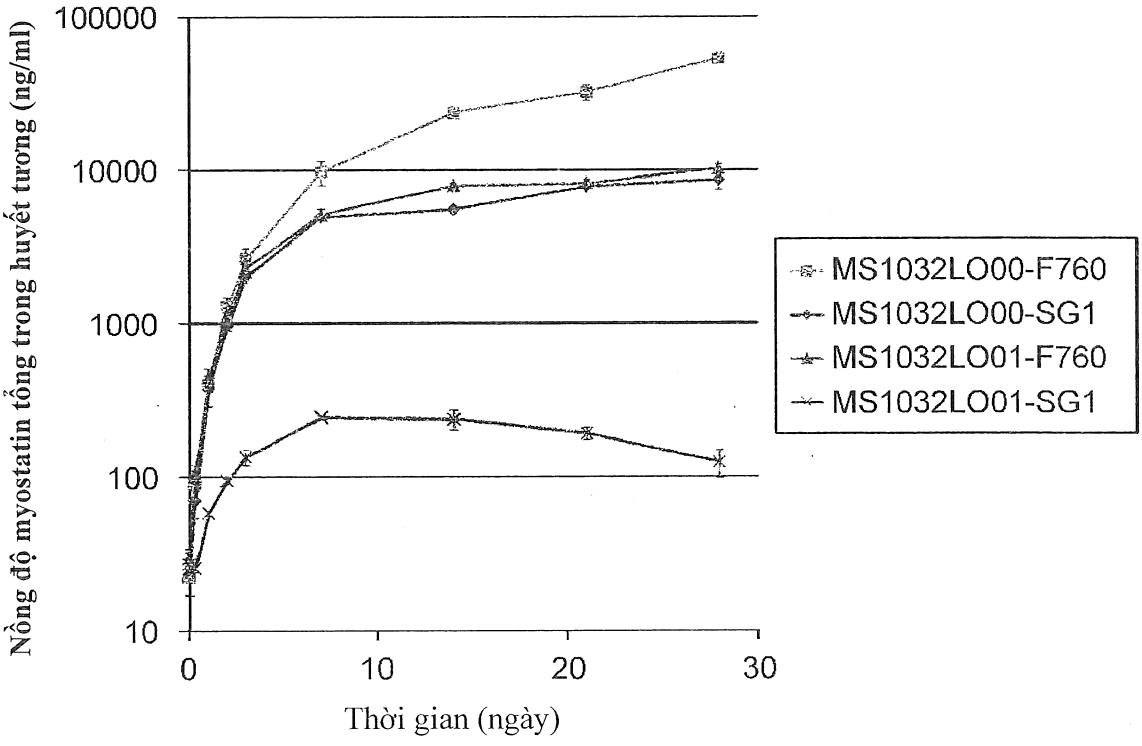
[Fig. 11]


(A)
(B)
(C)
(D)
(E)
(F)
RU
200
150
100
50
0
-50
Đáp ứng
75 125 175 225 275 325 375 425 475 525 575
giây
Thời gian
pH trung tính
pH axit

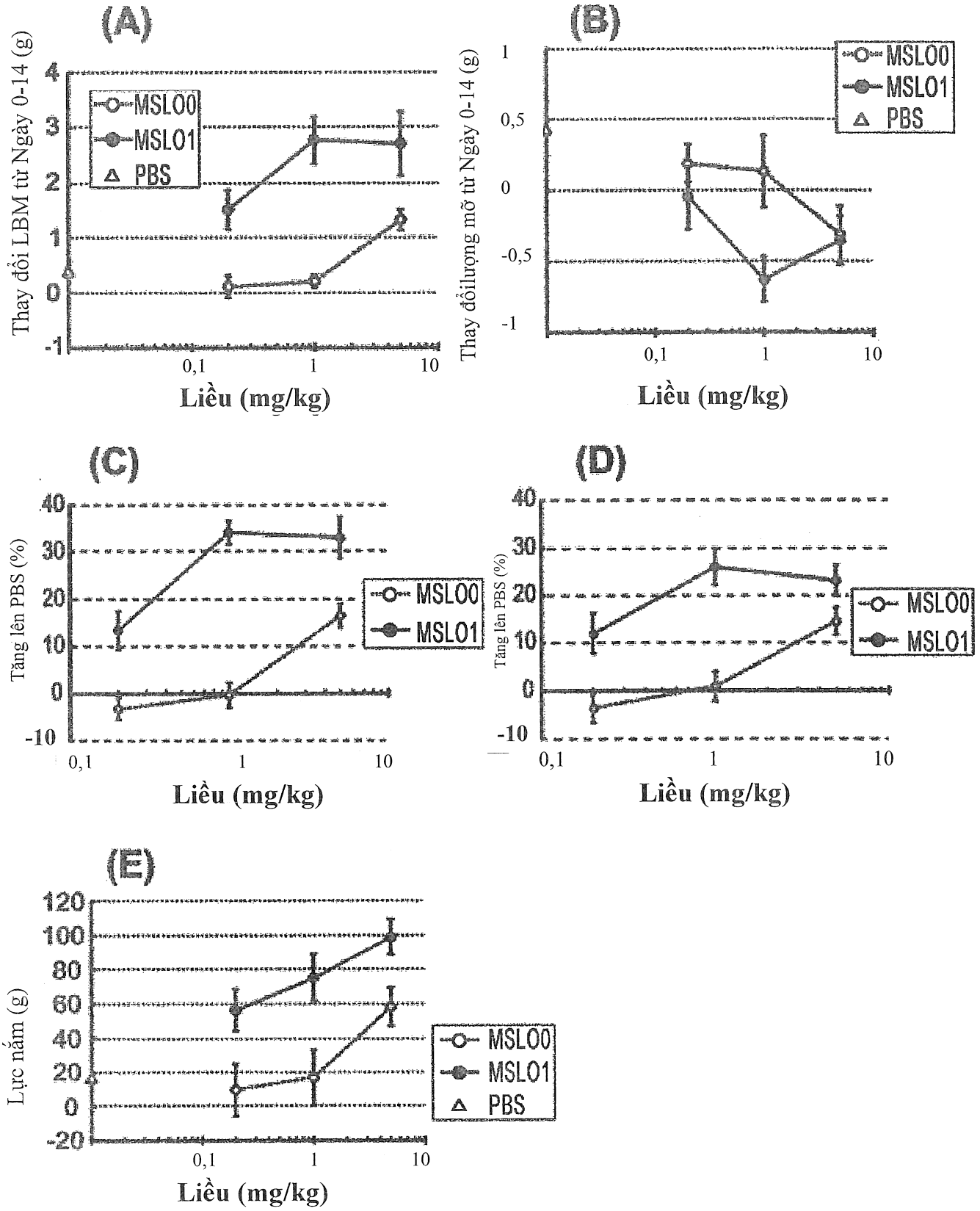
[Fig. 12]


100000
10000
1000
100
10
0
10
20
30
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/ml)
Thời gian (ngày)
MS1032LO00-F760
MS1032LO00-SG1

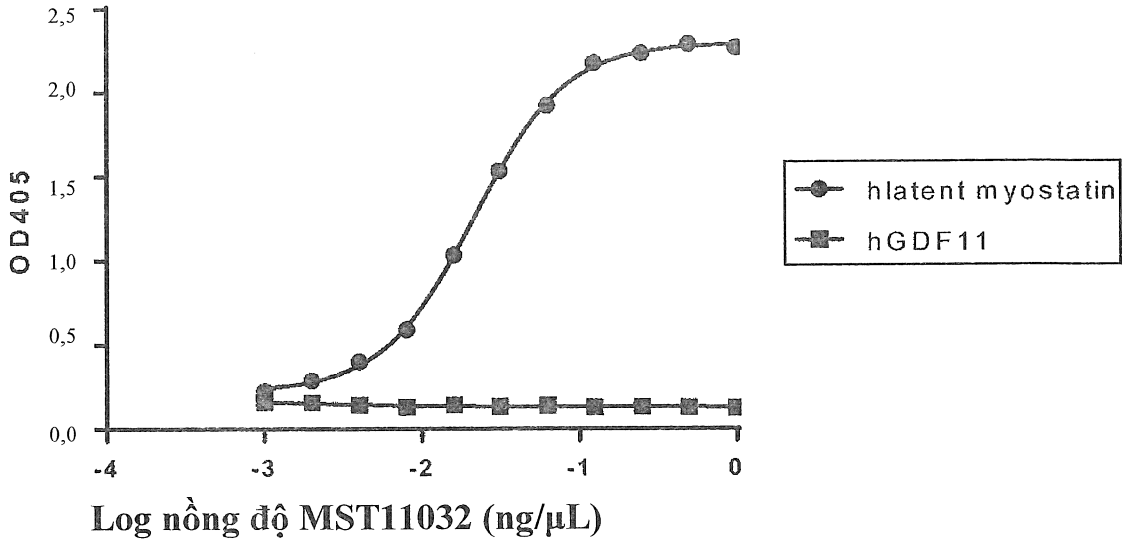
[Fig. 13]


100000
10000
1000
100
10
0
10
20
30
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/ml)
Thời gian (ngày)
MS1032LO00-F760
MS1032LO00-SG1
MS1032LO01-F760
MS1032LO01-SG1

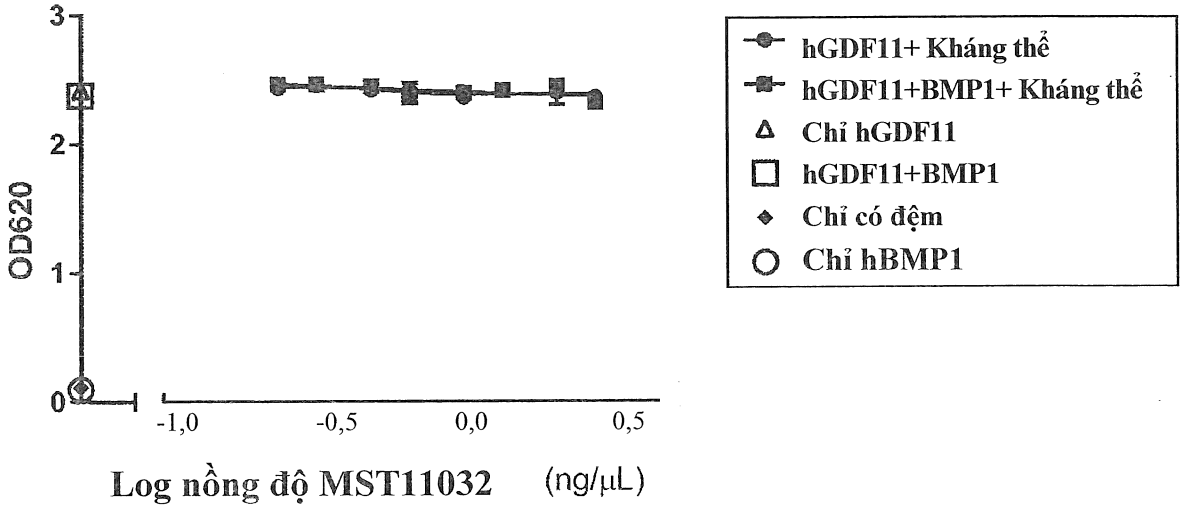
[Fig. 14]


(A)
Thay đổi LBM từ Ngày 0-14 (g)
MSLO0
MSLO1
PBS
Liều (mg/kg)
(B)
Thay đổilượng mỡ từ Ngày 0-14 (g)
MSLO0
MSLO1
PBS
Liều (mg/kg)
(C)
Tăng lên PBS (%)
MSLO0
MSLO1
Liều (mg/kg)
(D)
Tăng lên PBS (%)
MSLO0
MSLO1
Liều (mg/kg)
(E)
Lực nắm (g)
MSLO0
MSLO1
PBS
Liều (mg/kg)

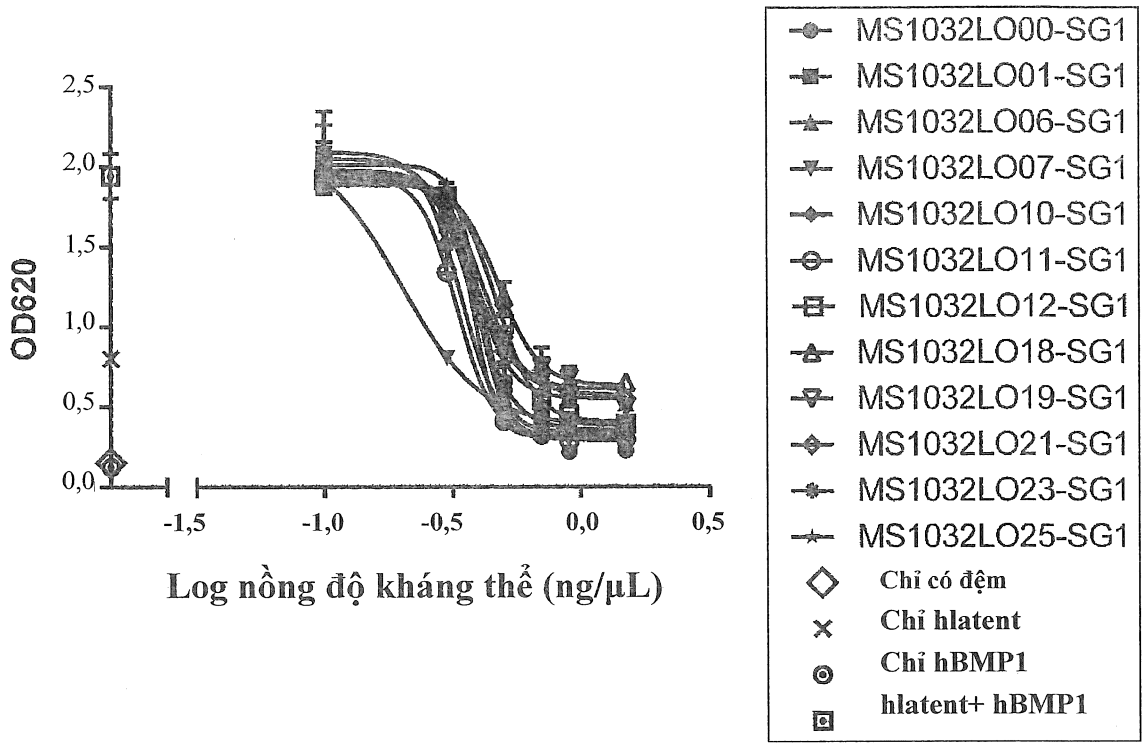
[Fig. 15]


2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
OD405
-4
-3
-2
-1
0
Log nồng độ MST11032 (ng/µL)
hlatent myostatin
hGDF11

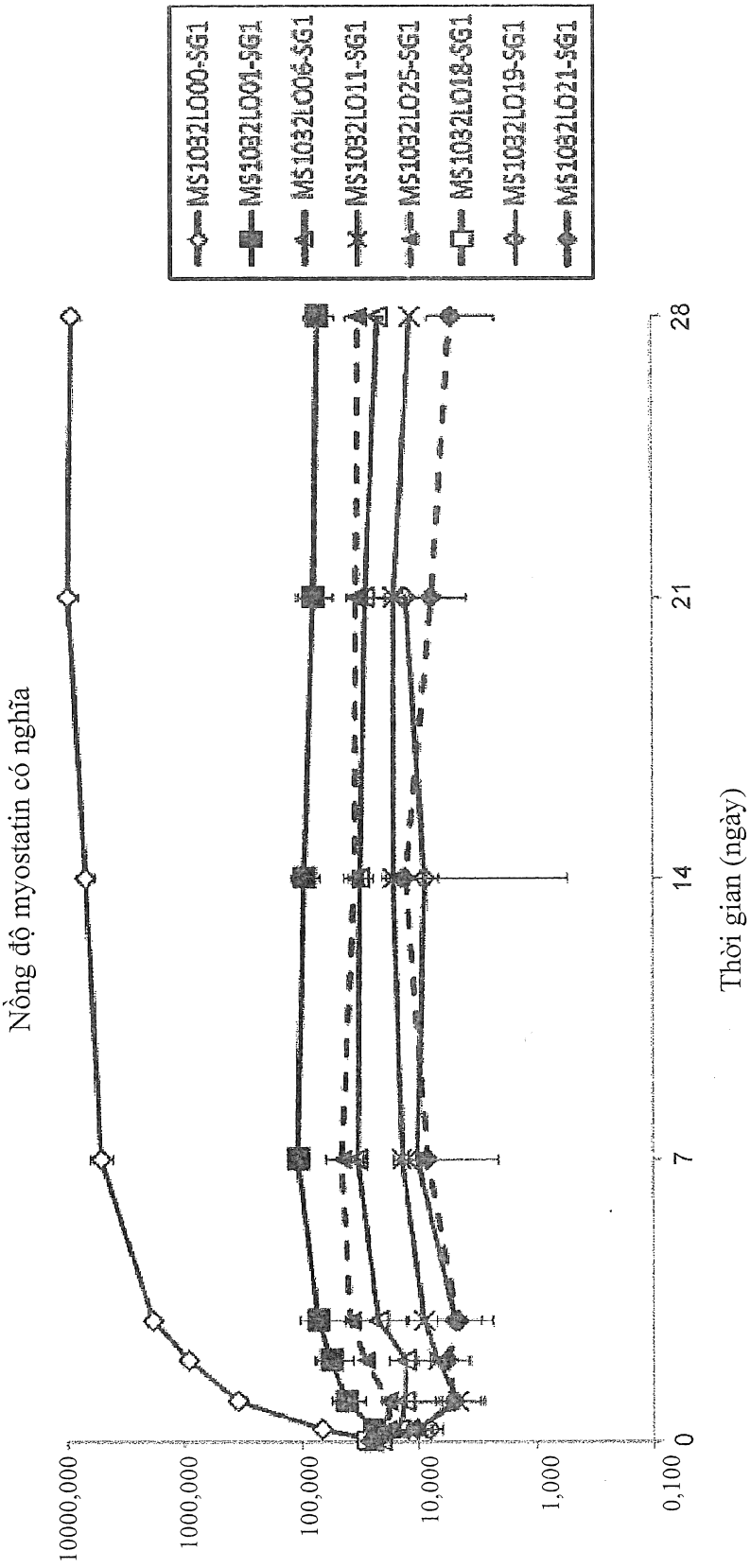
[Fig. 16]


3
2
1
0
OD620
-1,0
-0,5
0,0
0,5
Log nồng độ MST11032 (ng/µL)
hGDF11+ Kháng thể
hGDF11+BMP1+ Kháng thể
Chỉ hGDF11
hGDF11+BMP1
Chỉ có đệm
Chỉ hBMP1

[Fig. 17]

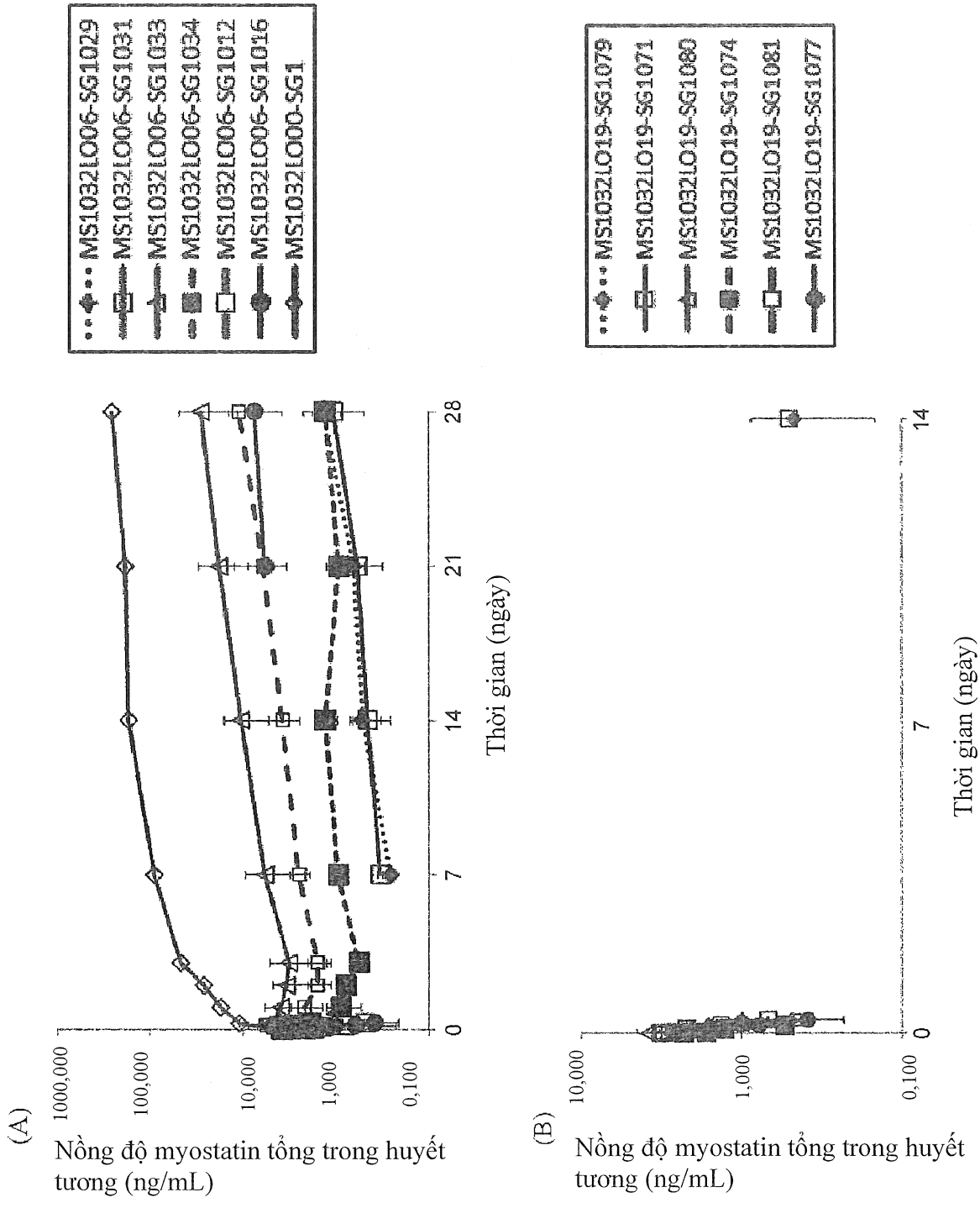

2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
OD620
-1,5
-1,0
-0,5
0,0
0,5
Log nồng độ kháng thể (ng/µL)
MS1032LO00-SG1
MS1032LO01-SG1
MS1032LO06-SG1
MS1032LO07-SG1
MS1032LO10-SG1
MS1032LO11-SG1
MS1032LO12-SG1
MS1032LO18-SG1
MS1032LO19-SG1
MS1032LO21-SG1
MS1032LO23-SG1
MS1032LO25-SG1
Chỉ có đệm
Chỉ hlatent
Chỉ hBMP1
hlatent+ hBMP1

[Fig. 18]

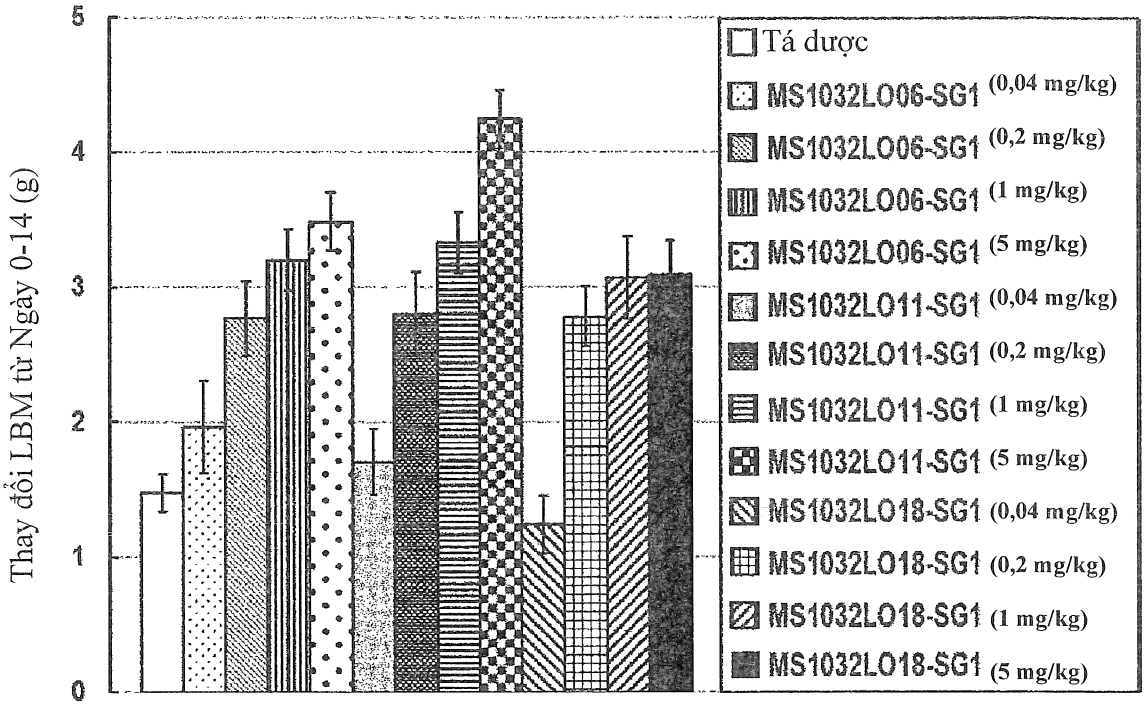


Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)

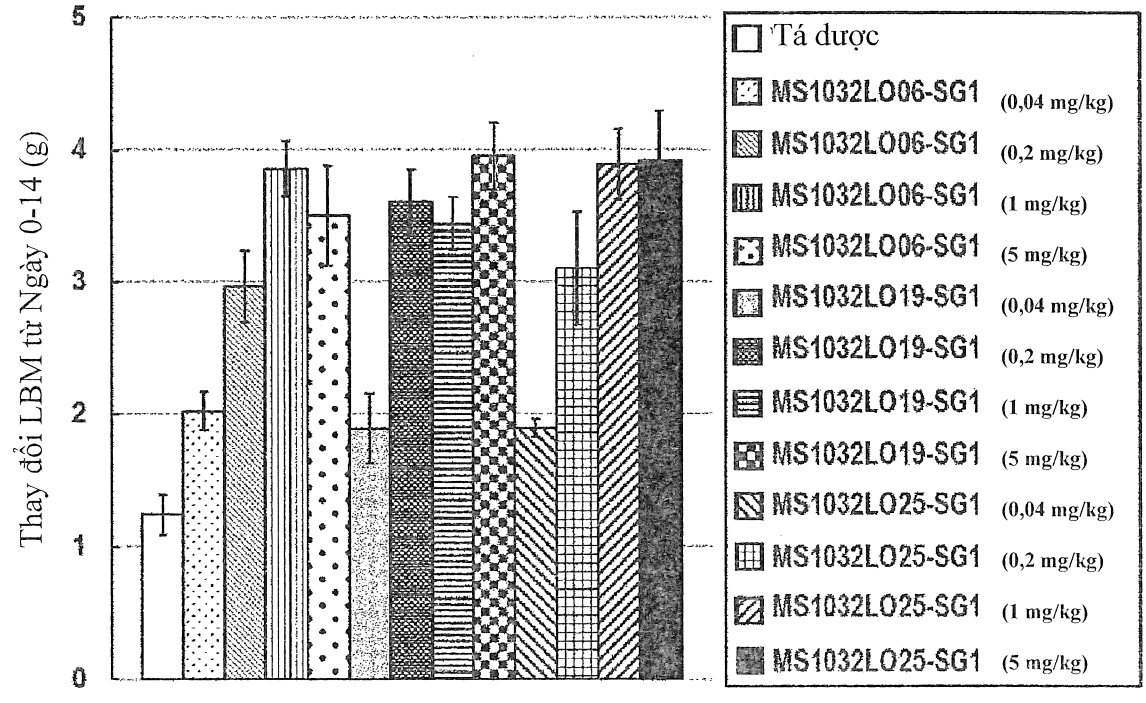
[Fig. 19]


MS1032LO06-SG1029
MS1032LO06-SG1031
MS1032LO06-SG1033
MS1032LO06-SG1034
MS1032LO06-SG1012
MS1032LO06-SG1016
MS1032LO00-SG1
(A)
1000,000
100,000
10,000
1,000
0,100
0
7
14
21
28
Thời gian (ngày)
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)
MS1032LO19-SG1079
MS1032LO19-SG1071
MS1032LO19-SG1080
MS1032LO19-SG1074
MS1032LO19-SG1081
MS1032LO19-SG1077
(B)
10,000
1,000
0,100
0
7
14
Thời gian (ngày)
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)

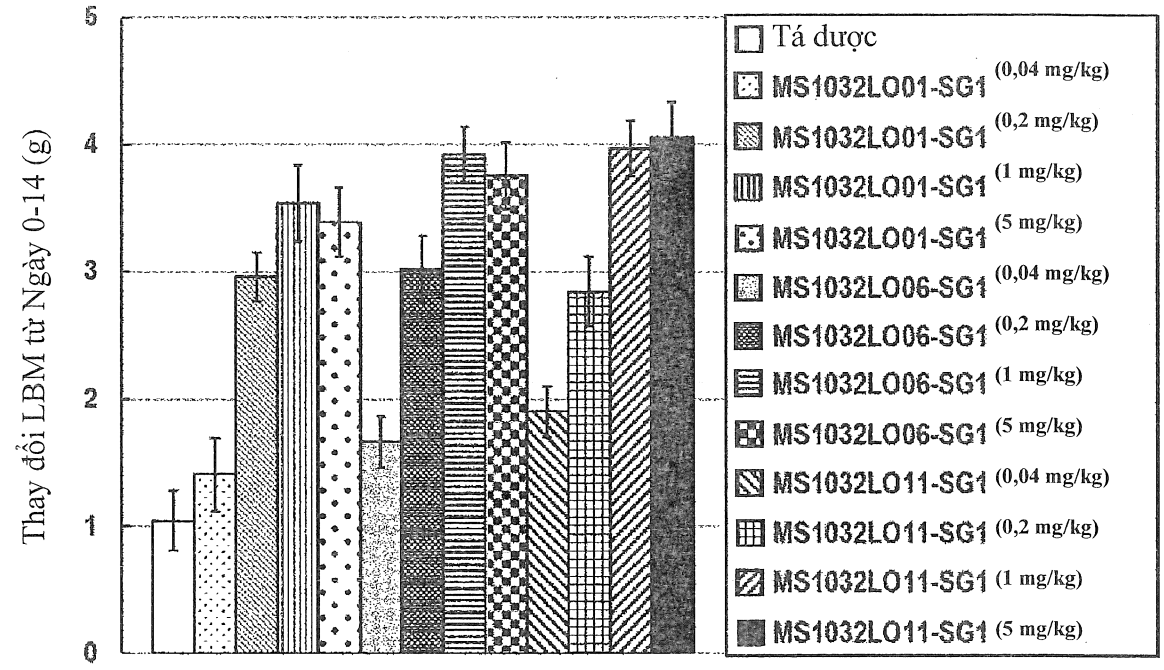
[Fig. 20A]



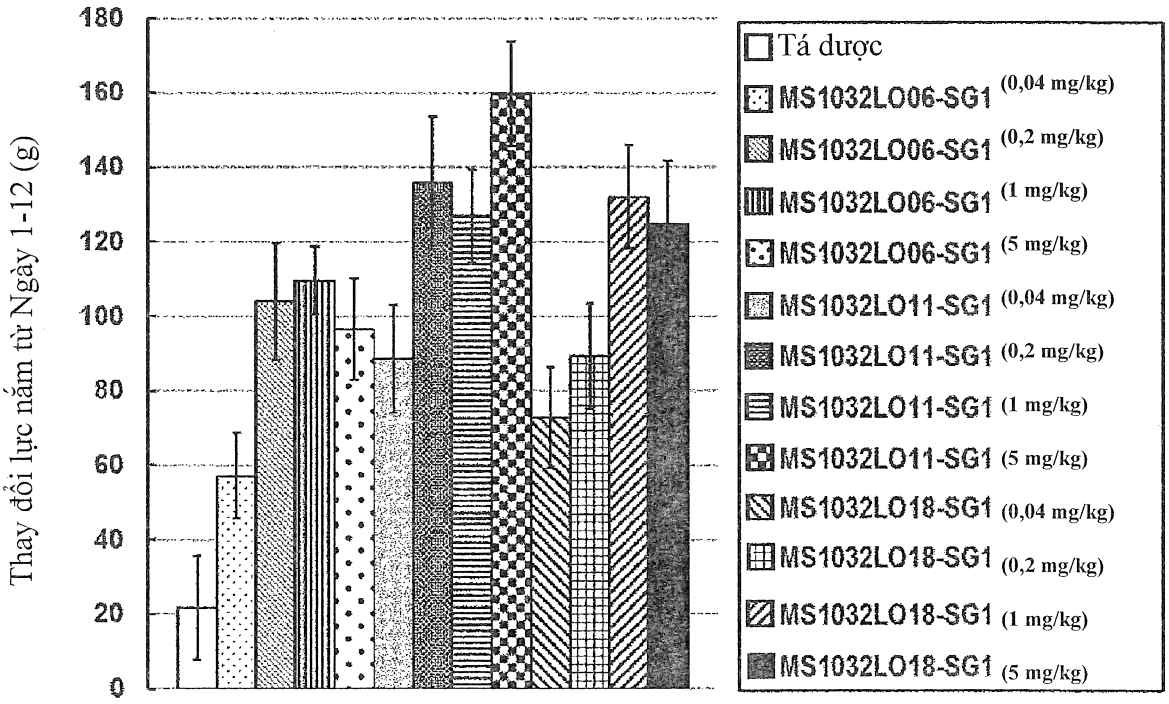
[Fig. 20B]



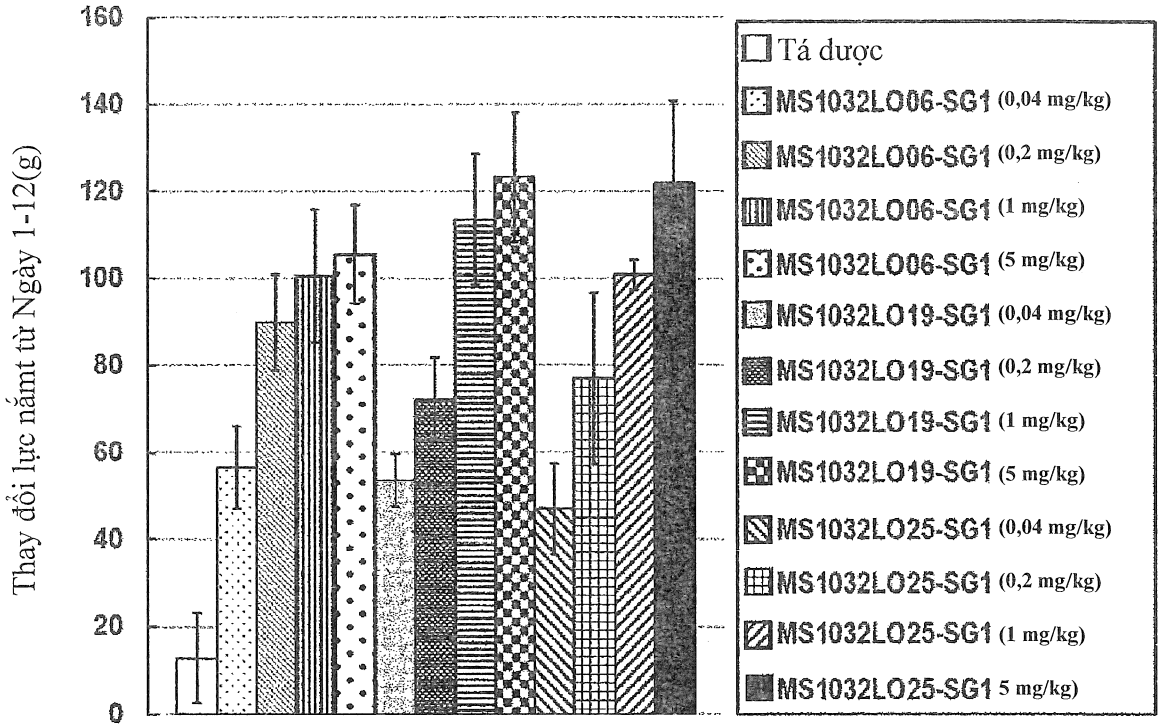
[Fig. 20C]



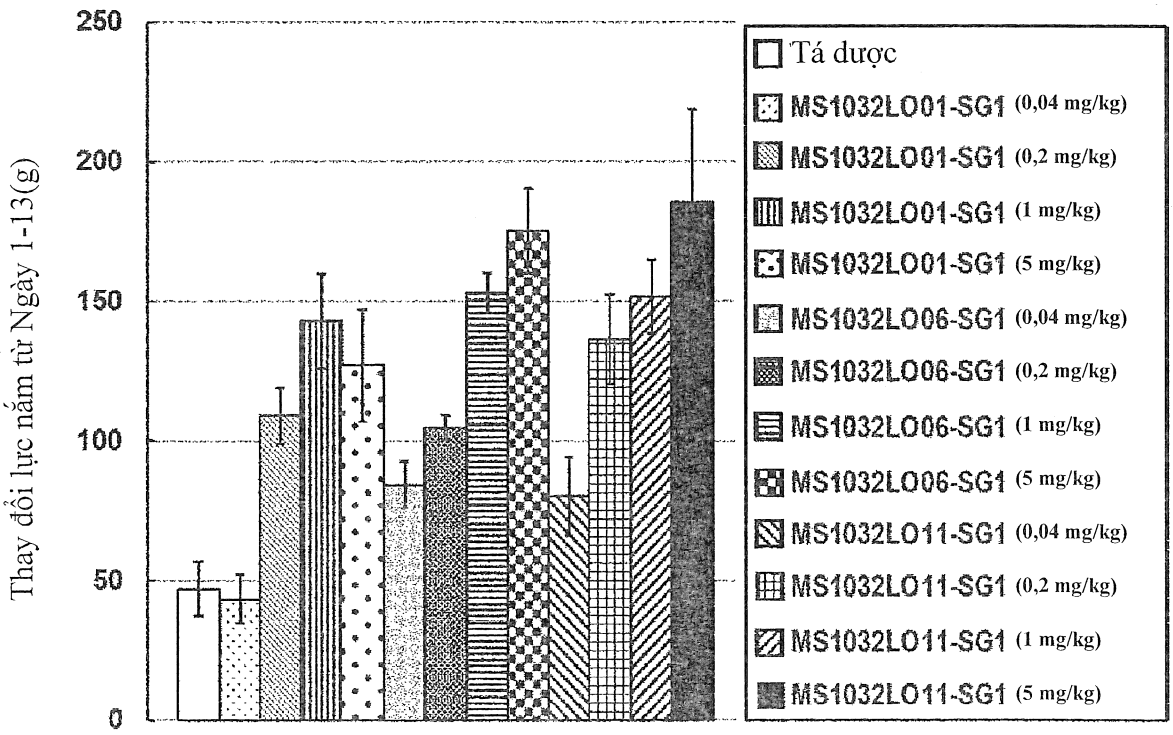
[Fig. 20D]



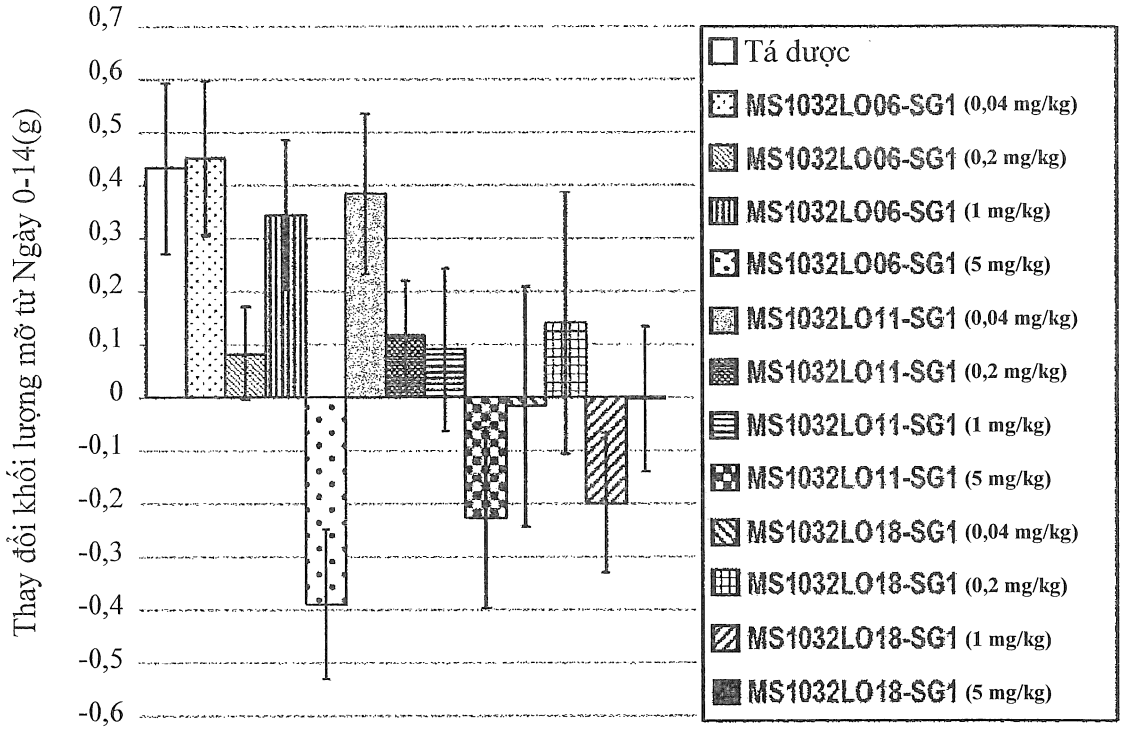
[Fig. 20E]



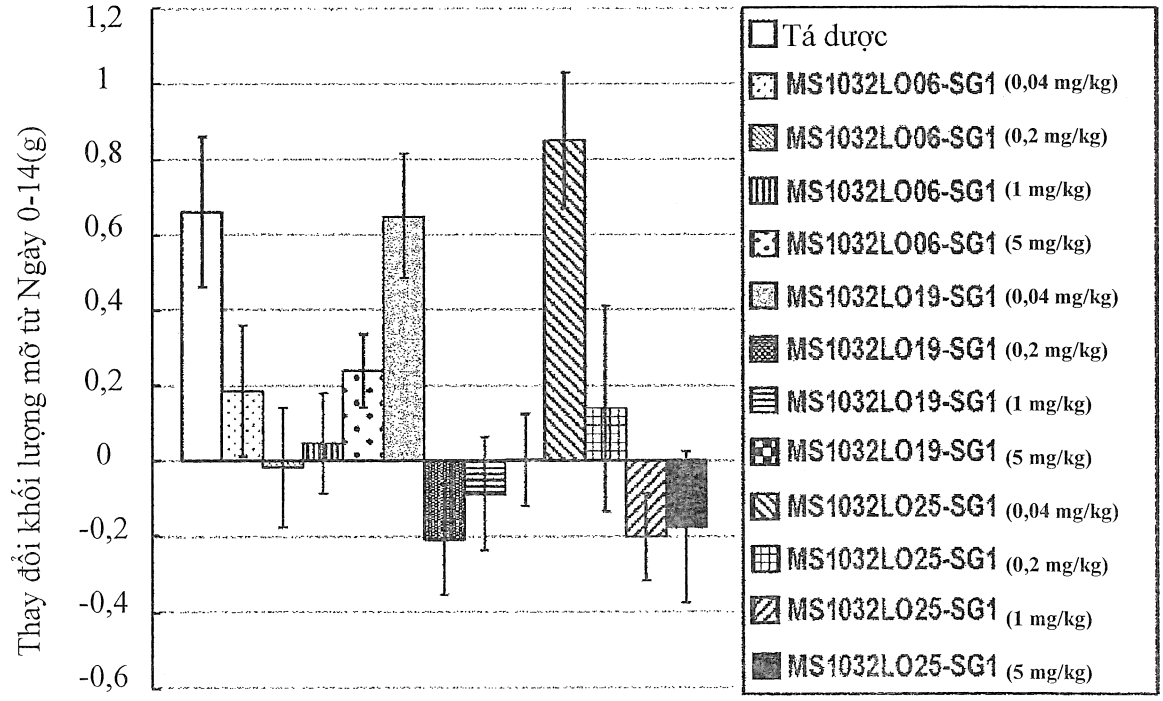
[Fig. 20F]



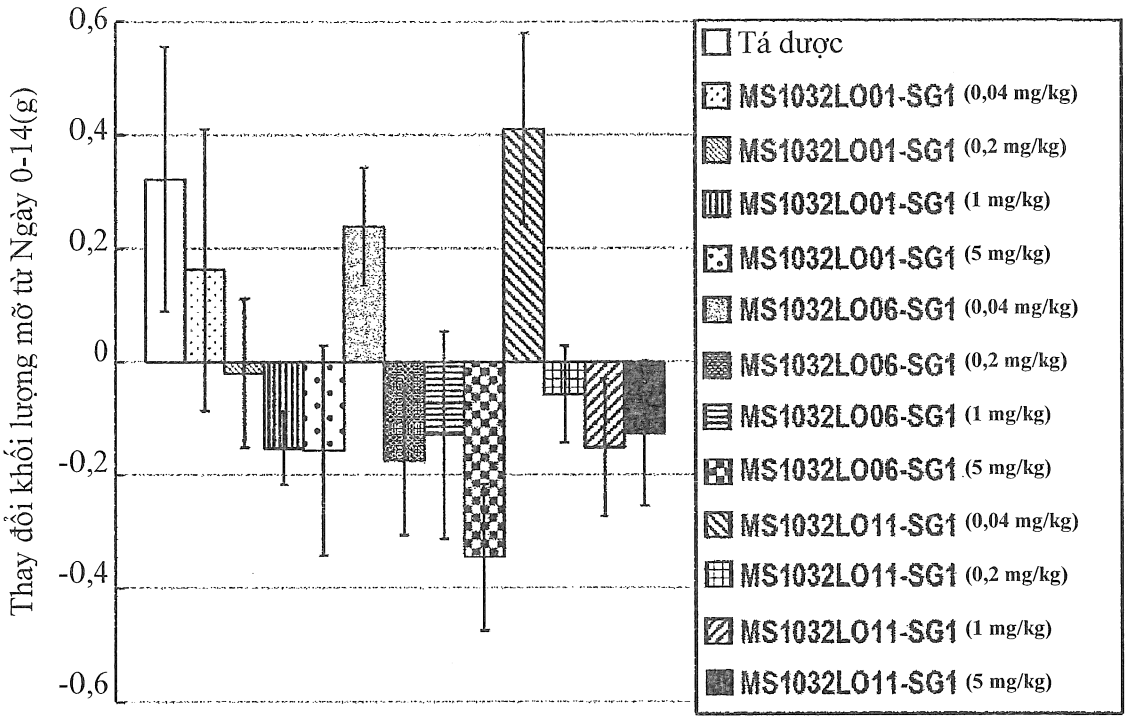
[Fig. 20G]



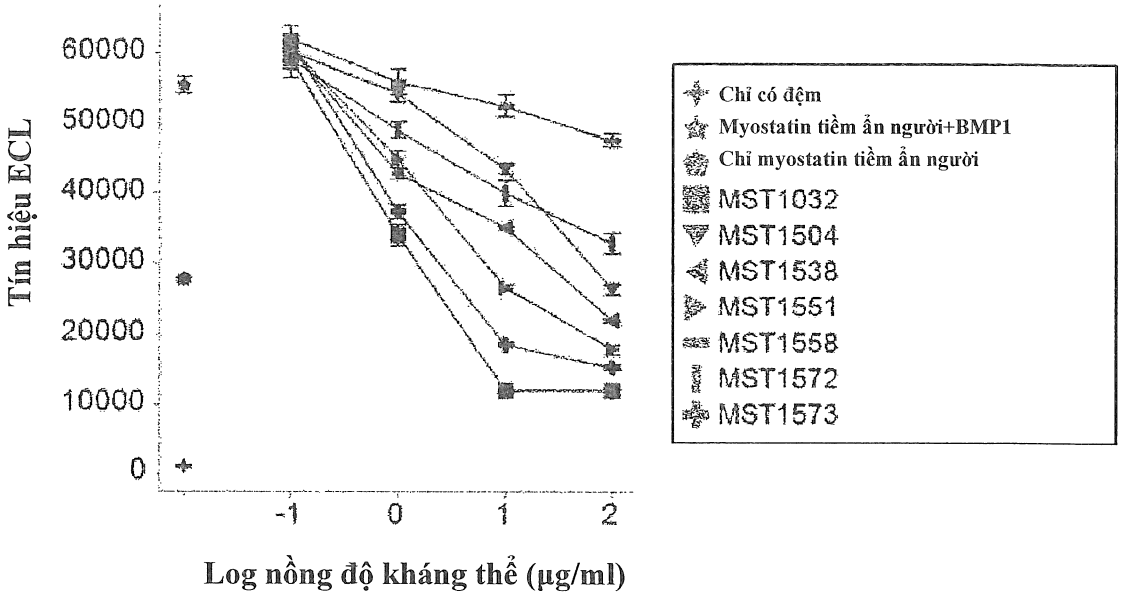
[Fig. 20H]



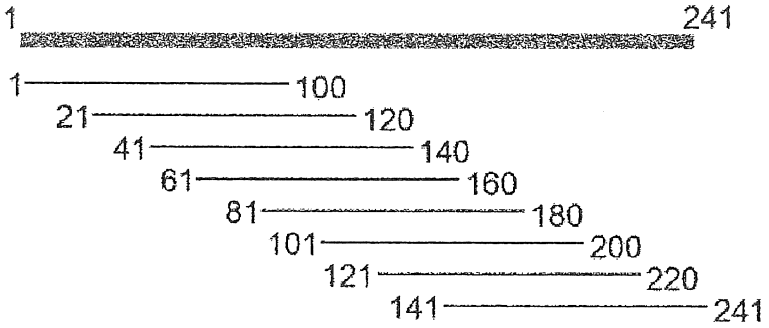
[Fig. 20I]


Thay đổi khối lượng mỡ từ Ngày 0-14(g)
0,6
0,4
0,2
0
-0,2
-0,4
-0,6
Tá dược
MS1032LO01-SG1 (0,04 mg/kg)
MS1032LO01-SG1 (0,2 mg/kg)
MS1032LO01-SG1 (1 mg/kg)
MS1032LO01-SG1 (5 mg/kg)
MS1032LO06-SG1 (0,04 mg/kg)
MS1032LO06-SG1 (0,2 mg/kg)
MS1032LO06-SG1 (1 mg/kg)
MS1032LO06-SG1 (5 mg/kg)
MS1032LO11-SG1 (0,04 mg/kg)
MS1032LO11-SG1 (0,2 mg/kg)
MS1032LO11-SG1 (1 mg/kg)
MS1032LO11-SG1 (5 mg/kg)

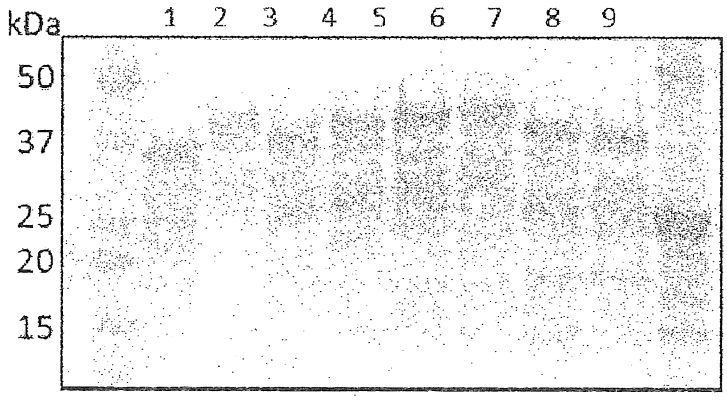
[Fig. 21]



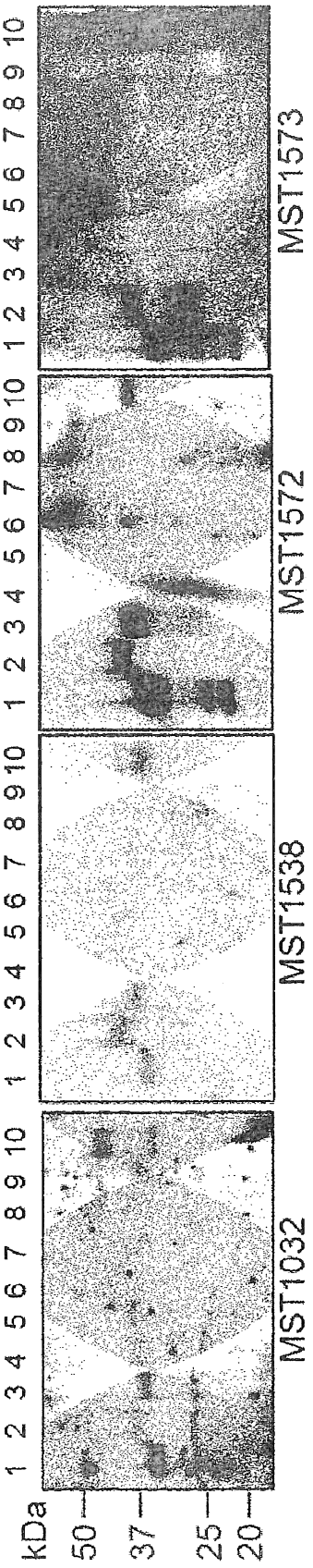
[Fig. 22A]



[Fig. 22B]



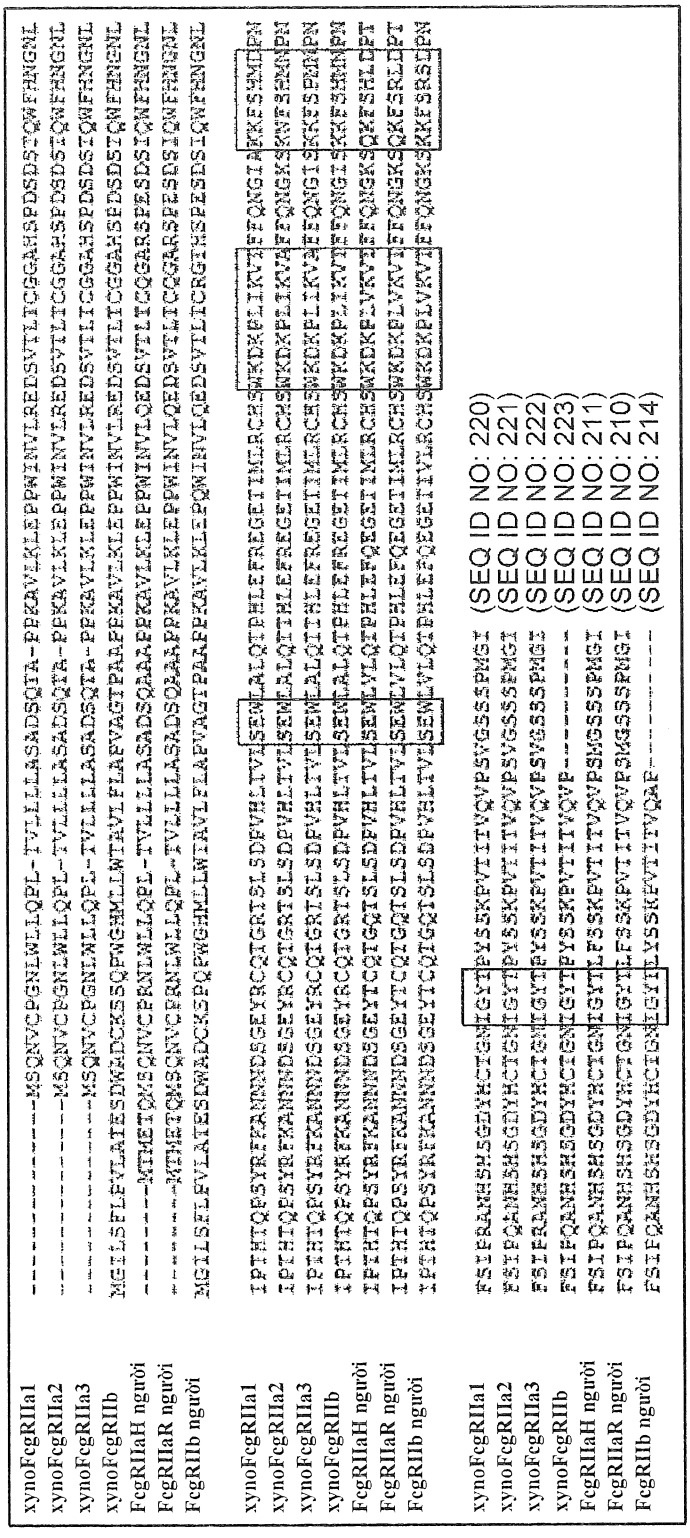
[Fig. 22C]


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
MST1032
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
MST1538
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
MST1572
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
MST1573
kDa
50
37
25
20

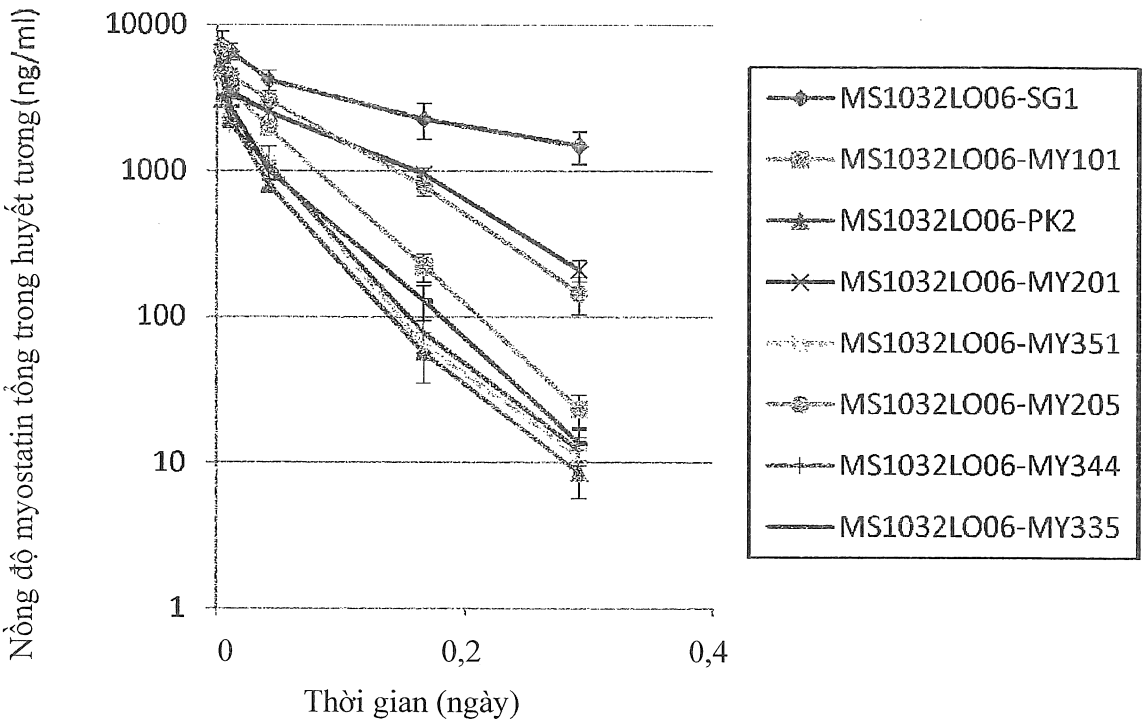
[Fig. 22D]

Ab	Epitop chính	Các mảnh							
		1	2	3	4	5	6	7	8
MST1032	81-100								
MST1538	41-60								
MST1572	41-60								
MST1573	21-40								

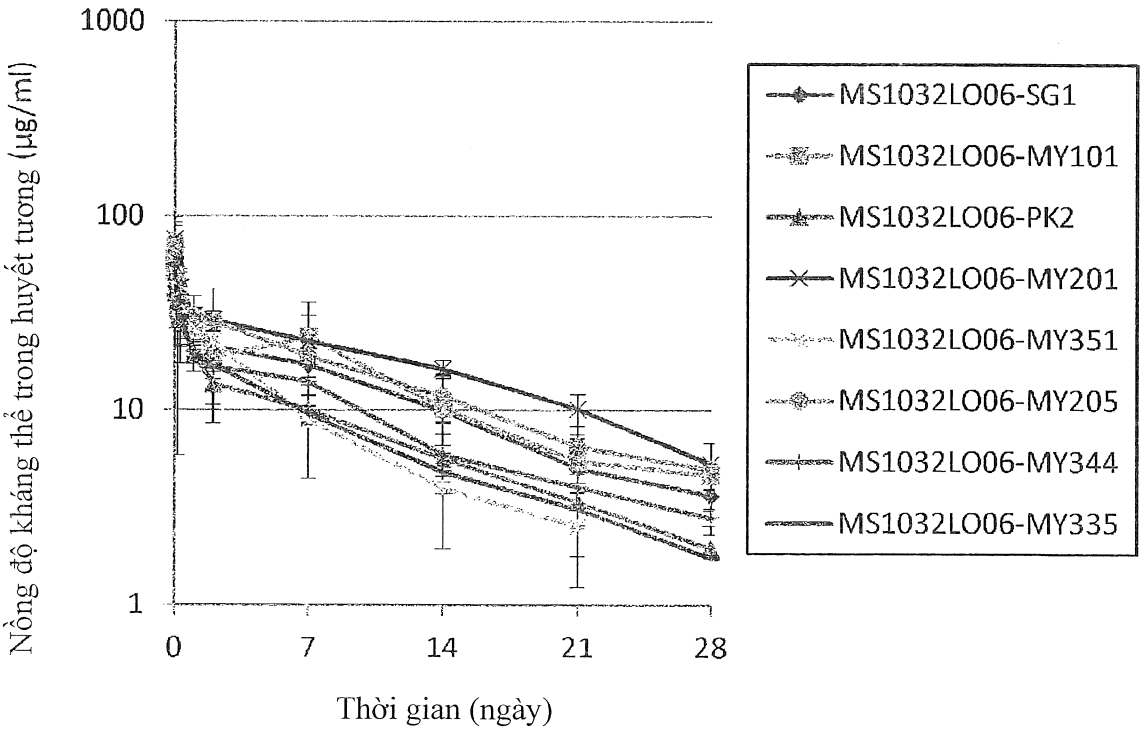
[Fig. 23]


xynoFcgRIIa1
xynoFcgRIIa2
xynoFcgRIIa3
xynoFcgRIIb
FcgRIIaH người
FcgRIIaR người
FcgRIIb người
xynoFcgRIIa1
xynoFcgRIIa2
xynoFcgRIIa3
xynoFcgRIIb
FcgRIIaH người
FcgRIIaR người
FcgRIIb người
xynoFcgRIIa1
xynoFcgRIIa2
xynoFcgRIIa3
xynoFcgRIIb
FcgRIIaH người
FcgRIIaR người
FcgRIIb người
(SEQ ID NO: 220)
(SEQ ID NO: 221)
(SEQ ID NO: 222)
(SEQ ID NO: 223)
(SEQ ID NO: 211)
(SEQ ID NO: 210)
(SEQ ID NO: 214)

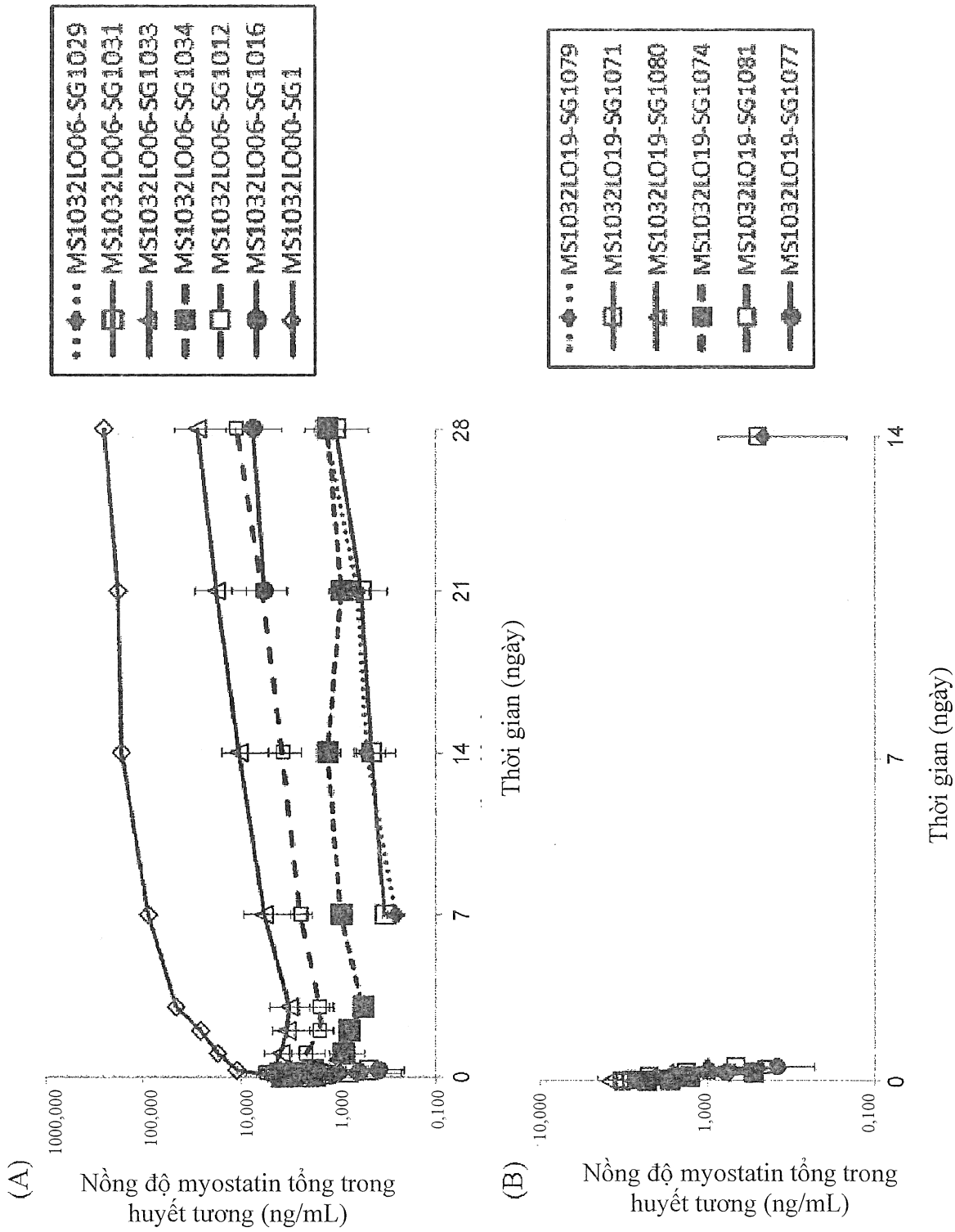
[Fig. 24]


Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/ml)
10000
1000
100
10
1
0
0,2
0,4
Thời gian (ngày)
MS1032LO06-SG1
MS1032LO06-MY101
MS1032LO06-PK2
MS1032LO06-MY201
MS1032LO06-MY351
MS1032LO06-MY205
MS1032LO06-MY344
MS1032LO06-MY335

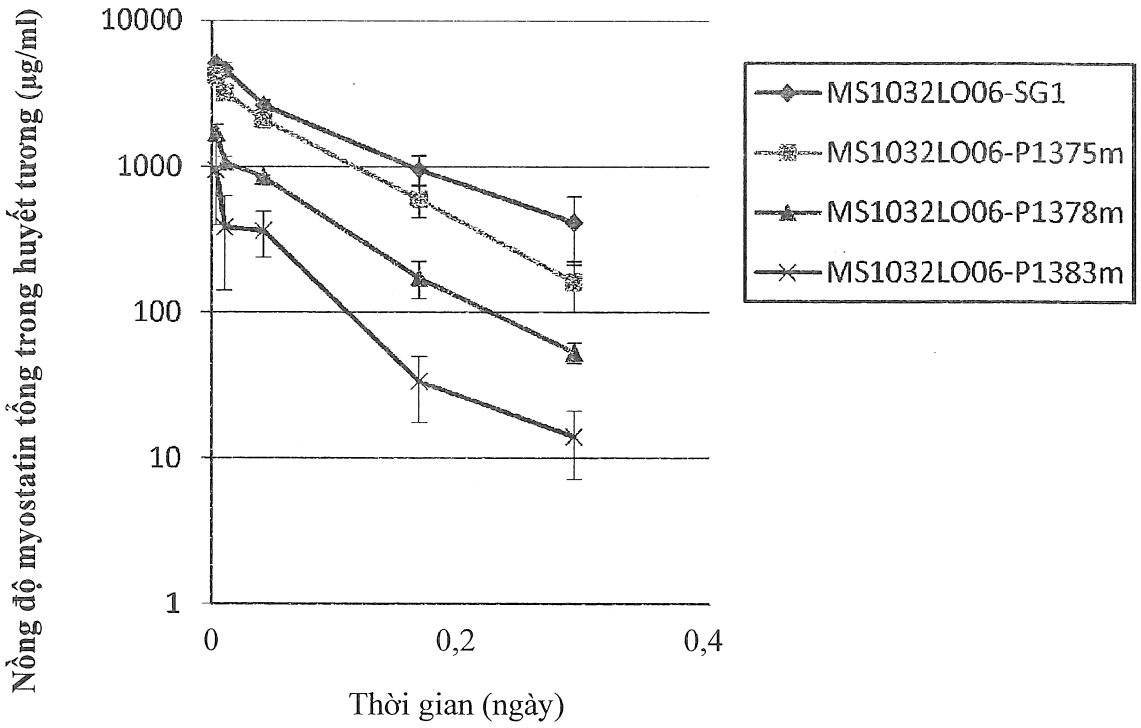
[Fig. 25]


Nồng độ kháng thể trong huyết tương (µg/ml)
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
Thời gian (ngày)
MS1032LO06-SG1
MS1032LO06-MY101
MS1032LO06-PK2
MS1032LO06-MY201
MS1032LO06-MY351
MS1032LO06-MY205
MS1032LO06-MY344
MS1032LO06-MY335

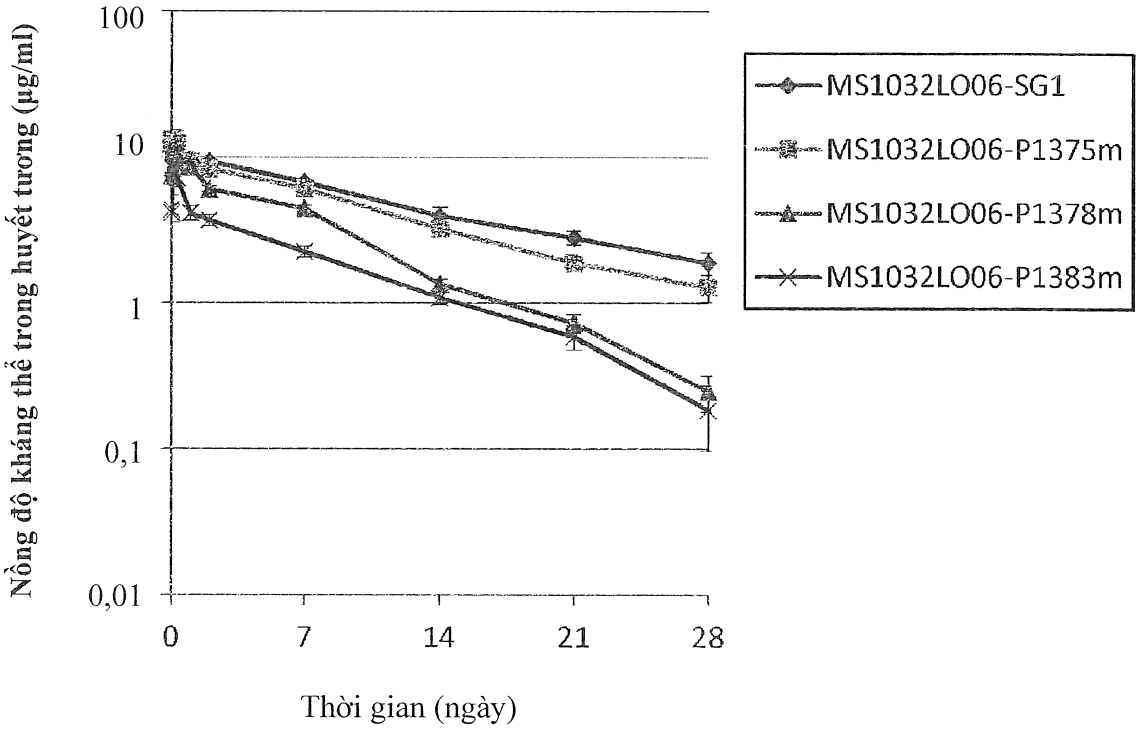
[Fig. 26]


MS1032LO06-SG1029
MS1032LO06-SG1031
MS1032LO06-SG1033
MS1032LO06-SG1034
MS1032LO06-SG1012
MS1032LO06-SG1016
MS1032LO00-SG1
MS1032LO19-SG1079
MS1032LO19-SG1071
MS1032LO19-SG1080
MS1032LO19-SG1074
MS1032LO19-SG1081
MS1032LO19-SG1077
(A)
(B)
1000,000
100,000
10,000
1,000
0,100
10,000
1,000
0,100
0
7
14
21
28
0
7
14
Thời gian (ngày)
Thời gian (ngày)
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)
Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)

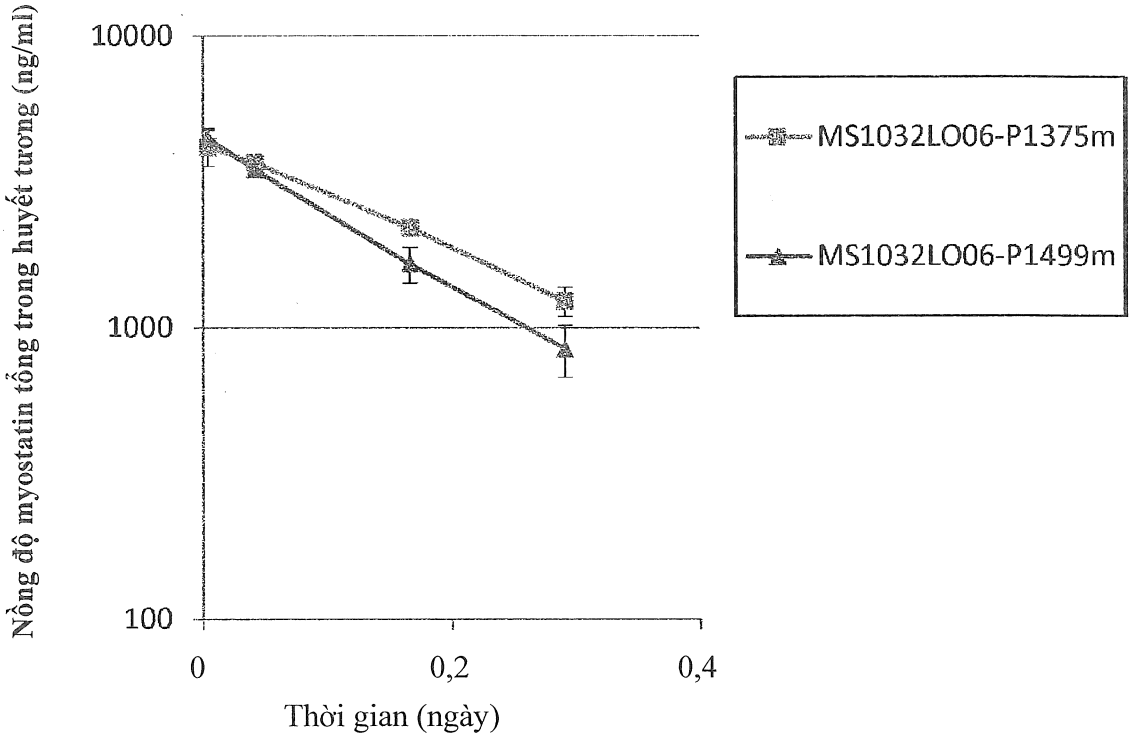
[Fig. 27A]



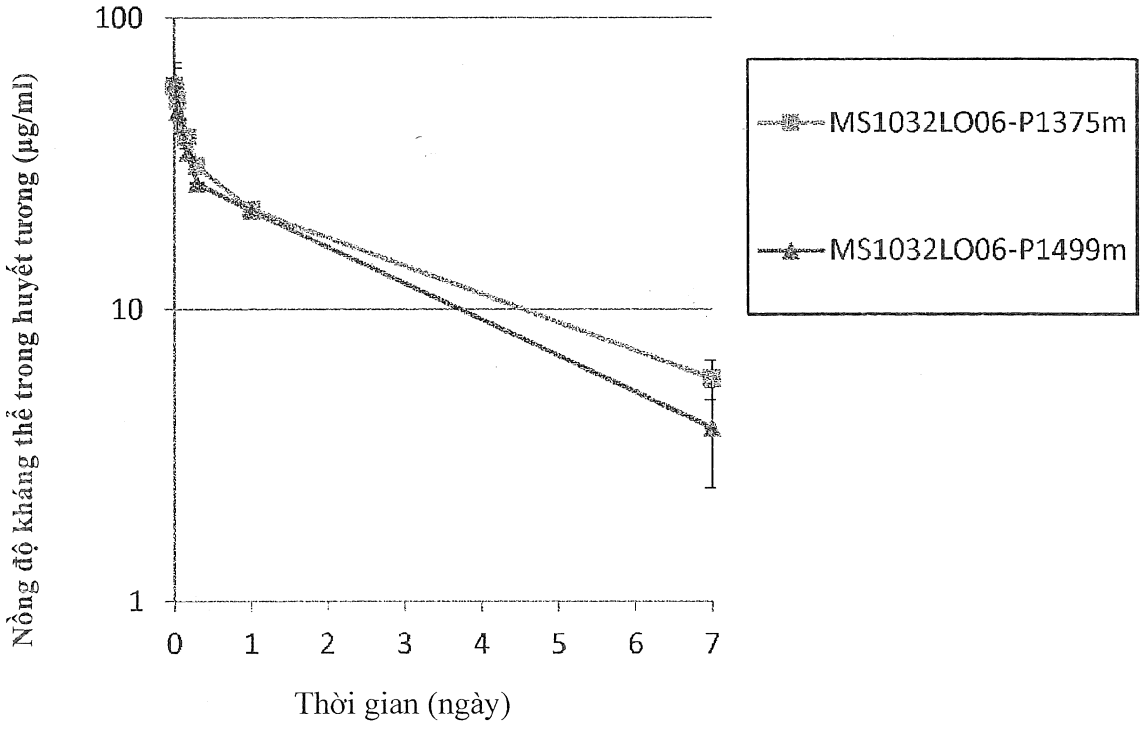
[Fig. 27B]



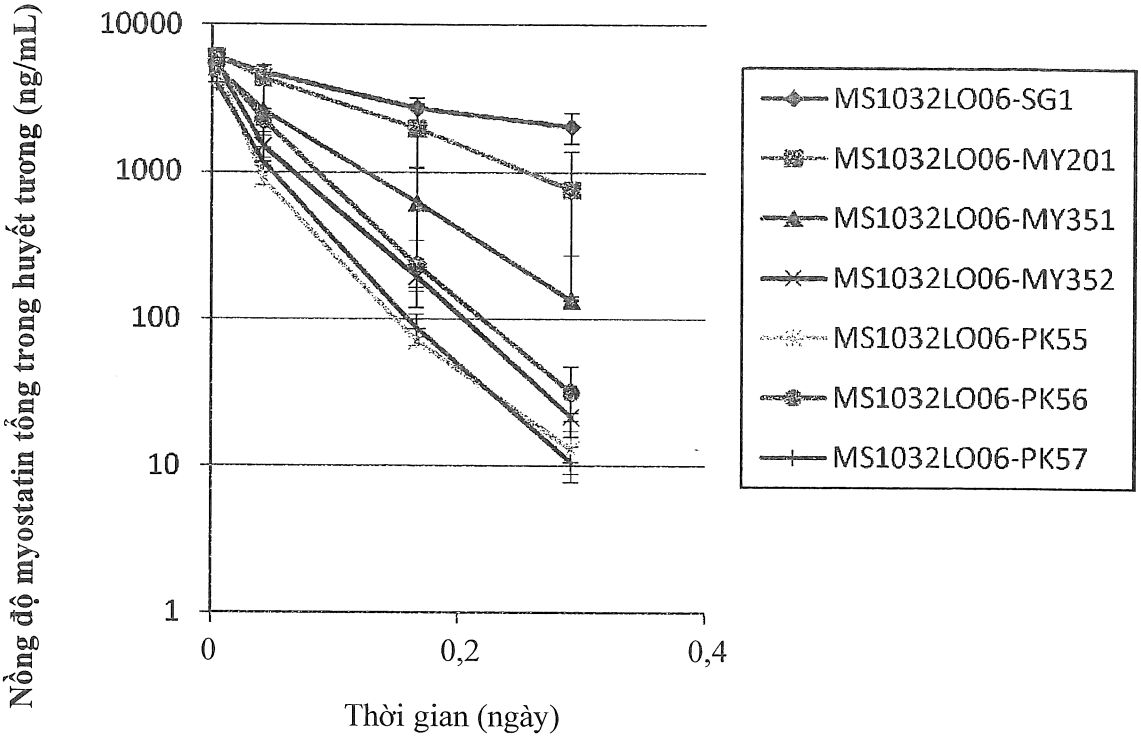
[Fig. 28A]



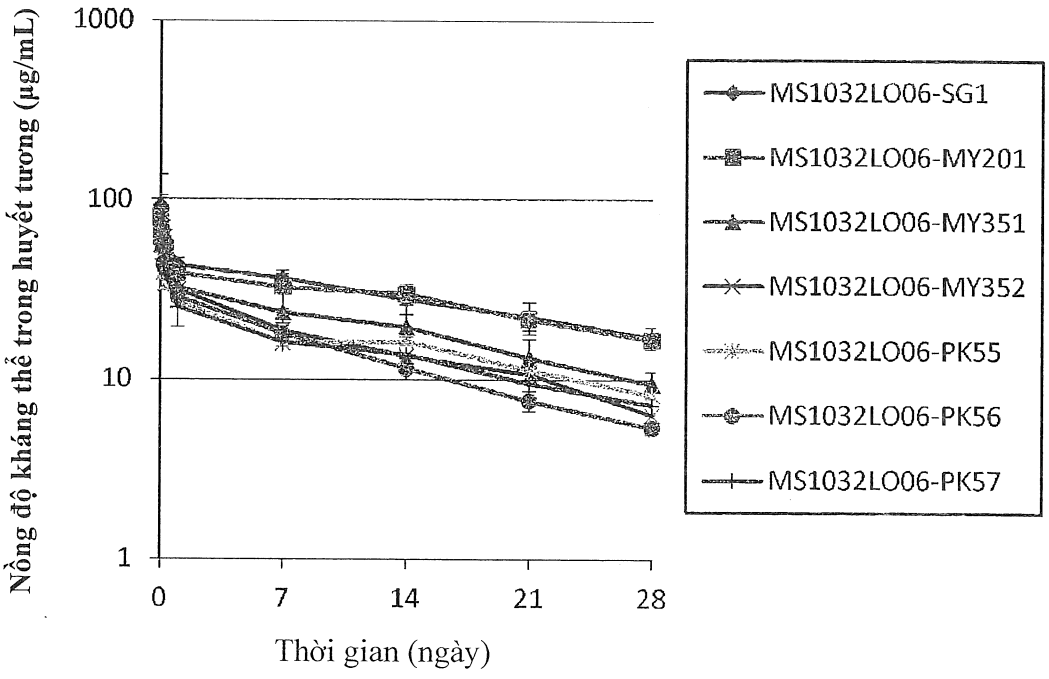
[Fig. 28B]



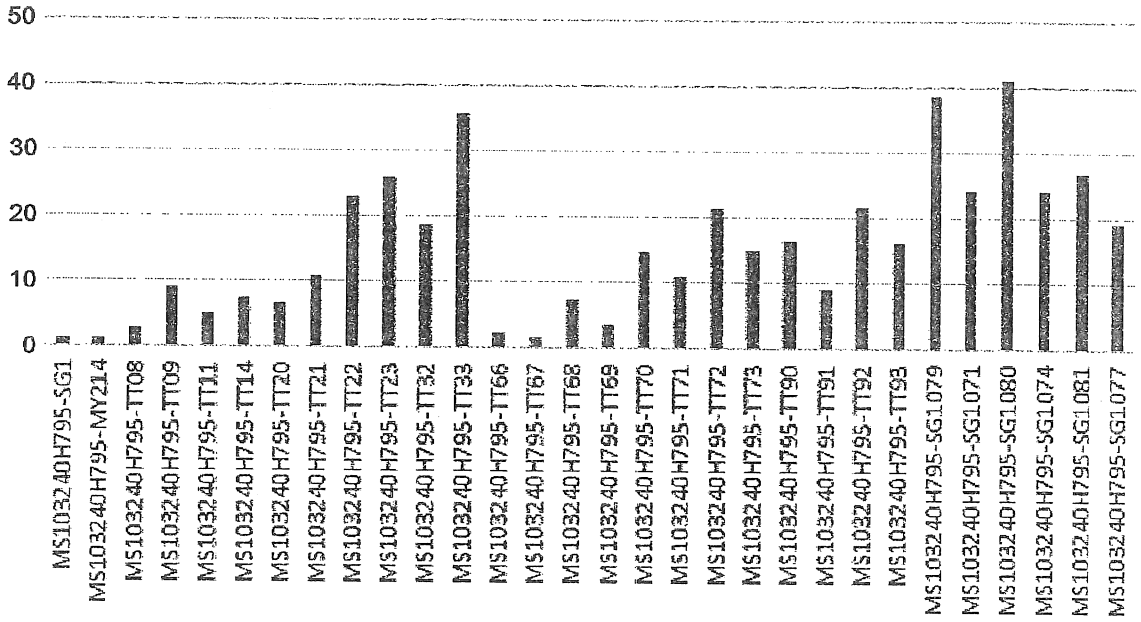
[Fig. 29]


Nồng độ myostatin tổng trong huyết tương (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0
0,2
0,4
Thời gian (ngày)
MS1032LO06-SG1
MS1032LO06-MY201
MS1032LO06-MY351
MS1032LO06-MY352
MS1032LO06-PK55
MS1032LO06-PK56
MS1032LO06-PK57

[Fig. 30]


Nồng độ kháng thể trong huyết tương (µg/mL)
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
Thời gian (ngày)
MS1032LO06-SG1
MS1032LO06-MY201
MS1032LO06-MY351
MS1032LO06-MY352
MS1032LO06-PK55
MS1032LO06-PK56
MS1032LO06-PK57

[Fig. 31]


50
40
30
20
10
0
MS103240H795-SG1
MS103240H795-MY214
MS103240H795-TT08
MS103240H795-TT09
MS103240H795-TT11
MS103240H795-TT14
MS103240H795-TT20
MS103240H795-TT21
MS103240H795-TT22
MS103240H795-TT23
MS103240H795-TT32
MS103240H795-TT33
MS103240H795-TT66
MS103240H795-TT67
MS103240H795-TT68
MS103240H795-TT69
MS103240H795-TT70
MS103240H795-TT71
MS103240H795-TT72
MS103240H795-TT73
MS103240H795-TT90
MS103240H795-TT91
MS103240H795-TT92
MS103240H795-TT93
MS103240H795-SG1079
MS103240H795-SG1071
MS103240H795-SG1080
MS103240H795-SG1074
MS103240H795-SG1081
MS103240H795-SG1077

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> CHẾ PHẨM DƯỢC BAO GỒM KHÁNG THỂ GẮN KẾT VỚI MYOSTATIN TIỀM ẨN

<130> C1-A1607P

<150> JP 2016-120337
<151> 2016-06-17

<160> 381

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 375
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile
1 5 10 15

Val Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn
20 25 30

Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr
35 40 45

Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu
50 55 60

Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Val Ile Arg Gln Leu
65 70 75 80

Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val
85 90 95

Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His
100 105 110

Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu
115 120 125

Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser
130 135 140

Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu
145 150 155 160

```
Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu
                165                 170                 175

Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu
            180                 185                 190

Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val
        195                 200                 205

Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly
    210                 215                 220

Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr
225                 230                 235                 240

Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys
                245                 250                 255

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

Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
        275                 280                 285

Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
    290                 295                 300

Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys
305                 310                 315                 320

Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
                325                 330                 335

Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
            340                 345                 350

Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val
        355                 360                 365

Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
    370                 375
```

<210> 2
<211> 109

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
1 5 10 15

Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
20 25 30

Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu
35 40 45

Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala
50 55 60

Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser
65 70 75 80

Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly
85 90 95

Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
100 105

<210> 3
<211> 375
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 3

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile
1 5 10 15

Val Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn
20 25 30

Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr
35 40 45

Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu
50 55 60

Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln Leu
65 70 75 80

```
Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val
                85                  90                  95

Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His
            100                 105                 110

Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu
        115                 120                 125

Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser
    130                 135                 140

Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu
145                 150                 155                 160

Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu
                165                 170                 175

Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu
            180                 185                 190

Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val
        195                 200                 205

Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly
    210                 215                 220

Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr
225                 230                 235                 240

Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys
                245                 250                 255

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

Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
        275                 280                 285

Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
    290                 295                 300

Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys
305                 310                 315                 320
```

Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
325 330 335

Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
340 345 350

Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val
355 360 365

Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
370 375

<210> 4
<211> 109
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 4

Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
1 5 10 15

Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
20 25 30

Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu
35 40 45

Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala
50 55 60

Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser
65 70 75 80

Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly
85 90 95

Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
100 105

<210> 5
<211> 376
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5

Met Met Gln Lys Leu Gln Met Tyr Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu
1 5 10 15

```
Ile Ala Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Gly Ser Glu Arg Glu Glu
            20                  25                  30

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

Thr Arg Tyr Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys
    50                  55                  60

Leu Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln
65                  70                  75                  80

Leu Leu Pro Arg Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp
                85                  90                  95

Val Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr
            100                 105                 110

His Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe
        115                 120                 125

Leu Met Gln Ala Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser
    130                 135                 140

Ser Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr
145                 150                 155                 160

Leu Arg Pro Val Lys Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg
                165                 170                 175

Leu Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser
            180                 185                 190

Leu Lys Leu Asp Met Ser Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp
        195                 200                 205

Val Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu
    210                 215                 220

Gly Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val
225                 230                 235                 240

Thr Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val
                245                 250                 255
```

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

Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr
275 280 285

Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg
290 295 300

Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln
305 310 315 320

Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser
325 330 335

Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu
340 345 350

Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met
355 360 365

Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
370 375

<210> 6
<211> 109
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 6

Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
1 5 10 15

Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
20 25 30

Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu
35 40 45

Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala
50 55 60

Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser
65 70 75 80

Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly
85 90 95

Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
100 105

<210> 7
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 7

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

```
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 8

```
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1               5                   10                  15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 9
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 9

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 10

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 11
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 12
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 12

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

Leu Thr Val Thr Cys Arg Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Asp
20 25 30

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

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

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

Pro Ala Tyr Ser Thr Gly Gly Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 13

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

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

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 14

Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn
20 25 30

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

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

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

Glu Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

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

<210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 15

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 16

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 17

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

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

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 18

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

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

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser Thr Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 19

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

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

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 20

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 21

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

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

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser Thr Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22

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

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 22

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser Thr Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 23

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser Thr Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 24

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 25

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

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

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 26

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

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

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 27

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 28

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

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

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 29
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 29

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 30

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala His Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 31

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 32
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 32

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 33
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 33

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Met Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 34

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 35

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 36
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 36

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asn
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 37

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gln Thr Ser Gln Ser Val Tyr His Asp
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 38
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 38

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asp
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 39
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 39
cagtcgctgg aggagtccgg gggtcgcctg gtaacgcctg gaggatccct gacagtcacc 60

tgcagagtct ctggaatcga cctcagtagt tacgacatca gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tggagtggat cggaatcatt agttatgctg gtagcacata ctacgcgagc 180

tgggcaaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatgacc 240

agtctgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggtgtgcc tgcttatagt 300

actggtggtg acttgtgggg cccaggcacc ctggtcaccg tctcctcc 348

<210> 40
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 40
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc agctacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactcta ccggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 41
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 41
gcgcaagtgc tgacccagac tgcatcatcc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaattgcc agtccagtca gagtgtttat gataacaact ggttatcctg gtttcagcag 120

aaaccagggc agcctcccaa gctcctgatc tattgggcat ccactctggc atctggggtc 180

ccatcgcggt tcaaaggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcgacctg 240

gagtgtgacg atgctgccac ttactactgt gcaggcggtt atggtggtgg tctgtatgct 300

ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa 330

<210> 42
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 42
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgcc agagcagcca gtccgtgtac gacaacaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc cagcggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gctgtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 43
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 43
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacaccgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 44
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 44
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacaccgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcac atactatatg 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 45
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 45
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cactacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 46
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 46
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccagcagcca gtccgtgtac cacaacaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctacggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 47
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 47
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgcc agagcagcca gtccgtgtac cacaacaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc cttcggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gctgtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 48
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 48

gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgcc agaccagcca gtccgtgtac cacgacaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agccccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc cagcggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 49
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 49
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccagcagcca gtccgtgtac cacgacaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agccccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctacggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gctgtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 50
<211> 987
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 50
gcttccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagtc cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac ctccggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctctcctc cgtggtgacc gtgccctcct cgtccttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagccctcc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

tccacgtacc gtgtggtctc cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggaa 720

atgaccaaga accaggtctc cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc ctccgacatc 780

gccgtggagt gggagtccaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac tccaagctca ccgtggacaa gtccaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagtcgc tctccctgtc tccgtag 987

<210> 51
<211> 984
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 51
gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact ccgggggga 360

ccgaaagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccg 984

<210> 52
<211> 987
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 52
gcttccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagtc gacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagtggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagtag tgtggtgacc gtgccctcca gtagtttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagt aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgagct cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagt cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agtacgtacc gtgtggtcag tgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 720

atgaccaaga accaggtcag tctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagtgacatc 780

gccgtggagt gggagagtaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agtaagctca ccgtggacaa gagtaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagtc tctccctgtc tccgtga 987

<210> 53
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 53
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

tccaaggact gcacctactc cctctcctcc accctgacgc tgtccaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgtcctcgcc cgtcacaaag 300

tccttcaaca ggggagagtg ttga 324

<210> 54
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 54
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggtaccgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agtaaggaca gtacctacag tctcagtagt accctgacgc tgtccaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgtcctcgcc cgtcacaaag 300

tccttcaaca ggggagagtg ttga 324

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 55

Ser Tyr Asp Ile Ser
1 5

<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 56

His Tyr Asp Ile Ser
1 5

<210> 57

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

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 57

His Thr Asp Ile Ser
1 5

<210> 58
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 58

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 59

Ile Ile Ser His Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 60

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Met Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 61
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 61

Gly Val Pro Ala Tyr Ser Thr Gly Gly Asp Leu
1 5 10

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 62

Gly Val Pro Ala His Ser Thr Gly Gly Asp Leu
1 5 10

<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 63

Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu
1 5 10

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 64

Gly Val Pro Ala His Ser His Gly Gly Asp Leu
1 5 10

<210> 65
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 65

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 66
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 66

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asn Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 67
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 67

Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asn Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 68
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 68

Gln Thr Ser Gln Ser Val Tyr His Asp Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 69
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 69

Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Asp Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 70

Trp Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 71

Trp Ala Ser Thr Leu Ala Tyr
1 5

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 72

Trp Ala Ser Thr Leu Ala Phe
1 5

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 73

Ala Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Leu Tyr Ala
1 5 10

<210> 74
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 74

Ala Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Arg Tyr Ala
1 5 10

<210> 75
<211> 242
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn
1 5 10 15

Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile
20 25 30

Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile
35 40 45

Ser Lys Asp Val Ile Arg Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg
50 55 60

Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly
65 70 75 80

Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr
85 90 95

Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys
100 105 110

Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val
115 120 125

Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr
130 135 140

Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr
145 150 155 160

Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr
165 170 175

```
Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu
            180                 185                 190

Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly
    210                 215                 220

Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser
225                 230                 235                 240

Arg Arg
```

<210> 76
<211> 242
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 76

```
Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn
1               5                   10                  15

Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile
            20                  25                  30

Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile
        35                  40                  45

Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg
    50                  55                  60

Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly
65                  70                  75                  80

Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr
                85                  90                  95

Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys
            100                 105                 110

Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val
        115                 120                 125
```

Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr
130 135 140

Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr
145 150 155 160

Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr
165 170 175

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

Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu
195 200 205

Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly
210 215 220

Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser
225 230 235 240

Arg Arg

<210> 77
<211> 242
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 77

Glu Gly Ser Glu Arg Glu Glu Asn Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn
1 5 10 15

Ala Cys Ala Trp Arg Gln Asn Thr Arg Tyr Ser Arg Ile Glu Ala Ile
20 25 30

Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile
35 40 45

Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln Leu Leu Pro Arg Ala Pro Pro Leu Arg
50 55 60

Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly
65 70 75 80

Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr
85 90 95

Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu Met Gln Ala Asp Gly Lys Pro Lys
100 105 110

Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val
115 120 125

Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu Arg Pro Val Lys Thr Pro Thr Thr
130 135 140

Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr
145 150 155 160

Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu Lys Leu Asp Met Ser Pro Gly Thr
165 170 175

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

Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu
195 200 205

Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly
210 215 220

Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser
225 230 235 240

Arg Arg

<210> 78
<211> 266
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile
1 5 10 15

Val Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn
20 25 30

Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr

35 40 45

Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu
50 55 60

Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Val Ile Arg Gln Leu
65 70 75 80

Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val
85 90 95

Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His
100 105 110

Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu
115 120 125

Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser
130 135 140

Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu
145 150 155 160

Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu
165 170 175

Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu
180 185 190

Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val
195 200 205

Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly
210 215 220

Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr
225 230 235 240

Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys
245 250 255

Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser Arg Arg
260 265

<210> 79

<211> 266
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 79

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile
1 5 10 15

Val Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn
20 25 30

Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr
35 40 45

Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu
50 55 60

Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln Leu
65 70 75 80

Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val
85 90 95

Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His
100 105 110

Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu
115 120 125

Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser
130 135 140

Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu
145 150 155 160

Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu
165 170 175

Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu
180 185 190

Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val
195 200 205

Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly
210 215 220

Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr
225 230 235 240

Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys
245 250 255

Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser Arg Arg
260 265

<210> 80
<211> 267
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 80

Met Met Gln Lys Leu Gln Met Tyr Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu
1 5 10 15

Ile Ala Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Gly Ser Glu Arg Glu Glu
20 25 30

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

Thr Arg Tyr Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys
50 55 60

Leu Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Ala Ile Arg Gln
65 70 75 80

Leu Leu Pro Arg Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp
85 90 95

Val Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr
100 105 110

His Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe
115 120 125

Leu Met Gln Ala Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser
130 135 140

Ser Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr
145 150 155 160

Leu Arg Pro Val Lys Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg
165 170 175

Leu Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser
180 185 190

Leu Lys Leu Asp Met Ser Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp
195 200 205

Val Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu
210 215 220

Gly Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val
225 230 235 240

Thr Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val
245 250 255

Lys Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser Arg Arg
260 265

<210> 81
<211> 407
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

Met Val Leu Ala Ala Pro Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Leu
1 5 10 15

Glu Leu Arg Pro Arg Gly Glu Ala Ala Glu Gly Pro Ala Ala Ala Ala
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser
35 40 45

Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val
50 55 60

Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys
65 70 75 80

Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser
85 90 95

```
Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln
            100                 105                 110

Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp
        115                 120                 125

Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser
    130                 135                 140

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

Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu
                165                 170                 175

Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr
            180                 185                 190

Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr
        195                 200                 205

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu
    210                 215                 220

Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe
225                 230                 235                 240

Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly
                245                 250                 255

Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr
            260                 265                 270

Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg
        275                 280                 285

Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser Arg Arg Asn Leu Gly Leu Asp Cys
    290                 295                 300

Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
305                 310                 315                 320

Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
                325                 330                 335
```

```
Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu Tyr Met Phe Met Gln Lys
            340                 345                 350

Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
        355                 360                 365

Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
    370                 375                 380

Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Gly Met Val
385                 390                 395                 400

Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
                405
```

<210> 82
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82

```
Asn Leu Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys
1               5                   10                  15

Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
            20                  25                  30

Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu
        35                  40                  45

Tyr Met Phe Met Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala
    50                  55                  60

Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser
65                  70                  75                  80

Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly
                85                  90                  95

Lys Ile Pro Gly Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
            100                 105
```

<210> 83
<211> 274
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83

Ala Glu Gly Pro Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala
20 25 30

Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg
35 40 45

Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
50 55 60

Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu
65 70 75 80

Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln
85 90 95

Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His
100 105 110

Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala
115 120 125

Val Gln Thr Asp Gly Ser Pro Leu Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro
130 135 140

Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu
145 150 155 160

Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu
165 170 175

Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg
180 185 190

Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser
195 200 205

Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe
210 215 220

Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro
225 230 235 240

Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly
245 250 255

Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser
260 265 270

Arg Arg

<210> 84
<211> 298
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

Met Val Leu Ala Ala Pro Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Leu
1 5 10 15

Glu Leu Arg Pro Arg Gly Glu Ala Ala Glu Gly Pro Ala Ala Ala Ala
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser
35 40 45

Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val
50 55 60

Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys
65 70 75 80

Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser
85 90 95

Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln
100 105 110

Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp
115 120 125

Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser
130 135 140

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

Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu
165 170 175

Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr
180 185 190

Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr
195 200 205

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu
210 215 220

Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe
225 230 235 240

Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly
245 250 255

Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr
260 265 270

Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg
275 280 285

Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser Arg Arg
290 295

<210> 85
<211> 409
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 85

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

Phe Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Glu Gly Pro Ala Ala
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Val Gly Gly Glu
35 40 45

Arg Ser Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala Pro Glu Pro Asp Gly Cys

50 55 60

Pro Val Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg Glu Leu Arg Leu Glu Ser
65 70 75 80

Ile Lys Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Lys Glu Ala Pro Asn
85 90 95

Ile Ser Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu
100 105 110

Gln Gln Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln Gly Asp Ala Leu Gln Pro
115 120 125

Glu Asp Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Val
130 135 140

Ile Ser Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala Val Gln Thr Asp Gly Ser
145 150 155 160

Pro Leu Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro Lys Val Met Phe Thr Lys
165 170 175

Val Leu Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu Arg Pro Val Pro Arg Pro
180 185 190

Ala Thr Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu Lys Pro Leu Thr Gly Glu
195 200 205

Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Arg His Ile Arg Ile Arg
210 215 220

Ser Leu Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser Gly His Trp Gln Ser Ile
225 230 235 240

Asp Phe Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe Arg Gln Pro Gln Ser Asn
245 250 255

Trp Gly Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro Ser Gly Thr Asp Leu Ala
260 265 270

Val Thr Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly Leu His Pro Phe Met Glu
275 280 285

Leu Arg Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser Arg Arg Asn Leu Gly Leu

290 295 300

Asp Cys Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu
305 310 315 320

Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys
325 330 335

Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu Tyr Met Phe Met
340 345 350

Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala Asn Pro Arg Gly
355 360 365

Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met
370 375 380

Leu Tyr Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Gly
385 390 395 400

Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
405

<210> 86
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 86

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Asp
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 87

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Asp
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Met Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Lys Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 88

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 89
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 89

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Lys Lys Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys

50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 90

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Lys Tyr Lys Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 91

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Asp
20 25 30

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

Gly Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Lys Lys Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 92

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Asp
20 25 30

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

Ser Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 93

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Asp
20 25 30

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

Ser Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 94

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Glu
20 25 30

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

Ser Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser His Glu
20 25 30

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

Ser Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 96

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Ala
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 97
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 97

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gln Ser Val Tyr His Glu
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 98
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 98

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Val Phe His Glu
20 25 30

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

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

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

Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Gly Gly
85 90 95

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 99
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 99

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gln Ser Val Tyr His Glu
20 25 30

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

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

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

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

Gly Arg Tyr Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 100
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 100
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacgacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 101
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 101
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacgacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcat gtactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga taagtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 102
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 102
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacaccgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggaagac atactatgcc 180

agctgggcta aaaaaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 103
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 103
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacaccgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggaagaa atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 104
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 104
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacaccgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggagcaa atacaaggcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 105
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 105
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcacag tgagtgggat cgacctgagc cacgacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtcggcatc attagctacg ccgggaagaa atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 106
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 106
caggtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg 60

agctgtgccg tgtccgggat cgacctgtca cacgacgata ttagctgggt gagacaggca 120

cccgggaagg gactggaatg ggtctctatc attagttacg ccggcagcac ctactatgcc 180

tcttgggcta aaggcaggct gaccatttct aaggacacaa gtaaaaacca ggtggtcctg 240

accatgacaa atatggaccc cgtggatact gcaacctact attgcgcccg gggcgtccct 300

gcttatagcc acggcggcga tctgtgggga caggggacac tggtgactgt cagctcc 357

<210> 107
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 107
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcaaag tgagtgggat cgacctgagc cacgacgaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtctccatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 108

<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 108
caggtgacac tgaaagaaag cggccccgtg ctggtgaagc caaccgagac actgactctg 60

acctgcaaag tgagtgggat cgacctgagc cacgaggaca tctcctgggt gcggcaggca 120

cccggaaagg gcctggaatg ggtctccatc attagctacg ccgggagcac atactatgcc 180

agctgggcta aaggaagact gactatctcc aaggacacct ctaaaaacca ggtggtcctg 240

actatgacca atatggaccc cgtggataca gcaacttact attgtgccag gggcgtccct 300

gcttactctc acggagggga tctgtgggga cagggaaccc tggtgacagt ctctagt 357

<210> 109
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 109
caggtgcagc tggtcgaatc tggaggagga ctggtgcagc caggagggtc actgcgactg 60

agctgtgccg tgtccgggat cgacctgtca cacgaggata ttagctgggt gagacaggca 120

cccgggaagg gactggaatg ggtctctatc attagttacg ccggcagcaa gtactatgcc 180

tcttgggcta aaggcaggct gaccatttct aaggacacaa gtaaaaacca ggtggtcctg 240

accatgacaa atatggaccc cgtggatact gcaacctact attgcgcccg gggcgtccct 300

gcttatagcc acggcggcga tctgtgggga caggggacac tggtgactgt cagctcc 357

<210> 110
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 110
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccagcagcca gtccgtgtac cacgccaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctacggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 111
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 111
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccaccagcca gtccgtgtac cacgagaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctacggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 112
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 112
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccagcagcca gtccgtgttc cacgagaatt ggctgagctg gttccagcag 120

aagccagggc agcccccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctggggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgccgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 113
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 113
gacattgtga tgactcagtc tcctgccact ctgtcactga gccctggcga gcgagcaacc 60

ctgtcttgca ccaccagcca gtccgtgtac cacgagaatt ggctgagctg gtaccagcag 120

aagccagggc agccccctaa actgctgatc tattgggcat caacactggc ctacggcgtc 180

ccctccagat tctccggatc tggcagtggg actgacttta ccctgaccat cagcagcctc 240

cagcccgagg atgtcgctac ctactattgt gctggcgggt acggaggcgg gcggtatgca 300

tttggacagg gcacaaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 114
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 114

His Asp Asp Ile Ser
1 5

<210> 115
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 115

His Glu Asp Ile Ser
1 5

<210> 116
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 116

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Met Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 117
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 117

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Lys
1 5 10 15

<210> 118
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 118

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Lys Lys Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 119
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 119

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Lys Tyr Lys Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 120
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 120

Ile Ile Ser Tyr Ala Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 121
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 121

Gly Val Pro Ala Tyr Ser His Gly Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 122
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 122

Thr Ser Ser Gln Ser Val Tyr His Ala Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 123
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 123

Thr Thr Ser Gln Ser Val Tyr His Glu Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 124
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 124

Thr Ser Ser Gln Ser Val Phe His Glu Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 125

Trp Ala Ser Thr Leu Ala Trp
1 5

<210> 126

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

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (1)..(1)
<223> Xaa là Ser hoặc His

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (2)..(2)
<223> Xaa là Tyr, Thr, Asp hoặc Glu

<400> 126

Xaa Xaa Asp Ile Ser
1 5

<210> 127
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (4)..(4)
<223> Xaa là Tyr hoặc His

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (7)..(7)
<223> Xaa là Ser hoặc Lys

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa là Thr, Met hoặc Lys

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (10)..(10)
<223> Xaa là Tyr hoặc Lys

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (11)..(11)
<223> Xaa là Ala, Met hoặc Glu

<220>
<221> dấu hiệu misc

<222> (12)..(12)
<223> Xaa là Ser hoặc Glu

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (16)..(16)
<223> Xaa là Gly hoặc Lys

<400> 127

Ile Ile Ser Xaa Ala Gly Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Trp Ala Lys Xaa
1 5 10 15

<210> 128
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (5)..(5)
<223> Xaa là Tyr hoặc His

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (7)..(7)
<223> Xaa là Thr hoặc His

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (11)..(11)
<223> Xaa là Leu hoặc Lys

<400> 128

Gly Val Pro Ala Xaa Ser Xaa Gly Gly Asp Xaa
1 5 10

<210> 129
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (1)..(1)
<223> Xaa là Gln hoặc Thr

<220>
<221> dấu hiệu misc

<222> (2)..(2)
<223> Xaa là Ser hoặc Thr

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (5)..(5)
<223> Xaa là Ser hoặc Glu

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (7)..(7)
<223> Xaa là Tyr hoặc Phe

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa là Asp hoặc His

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (9)..(9)
<223> Xaa là Asn, Asp, Ala hoặc Glu

<400> 129

Xaa Xaa Ser Gln Xaa Val Xaa Xaa Xaa Asn Trp Leu Ser
1 5 10

<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (3)..(3)
<223> Xaa là Ser hoặc Glu

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (7)..(7)
<223> Xaa là Ser, Tyr, Phe hoặc Trp

<400> 130

Trp Ala Xaa Thr Leu Ala Xaa
1 5

<210> 131
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<220>
<221> dấu hiệu misc
<222> (8)..(8)
<223> Xaa là Leu hoặc Arg

<400> 131

Ala Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Xaa Tyr Ala
1 5 10

<210> 132
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 132

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser
20 25 30

<210> 133
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 133

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser
20 25 30

<210> 134
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 134

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser
20 25 30

<210> 135
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 135

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 136

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

<210> 137
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 137

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
1 5 10 15

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 138
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 138

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 139
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 139

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210> 140
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 140

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 141
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 141

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 142
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 142

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 143
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 143

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 144

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 145
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 145

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

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

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

Ile Ile Tyr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
    50                  55                  60

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

Gly Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Gly Phe Leu
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser His Tyr Thr Thr Gly Gly Tyr Tyr Leu Asp Leu Trp Gly
            100                 105                 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 146
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 146

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

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

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

Ala Cys Ile Tyr Ala Gly Ile Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Asp Pro Tyr His Phe Asp Tyr Gly Ser Leu Trp Gly Pro Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 147
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 147

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Trp
20 25 30

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

Ile Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 148
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 148

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

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

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

Phe Ile Tyr Val Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Arg Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Val Arg Thr Trp
85 90 95

Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 149
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 149

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

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

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

Ile Ile Tyr Gly Val Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

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

Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 150
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 150

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Ser Ser
20 25 30

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

Phe Ile Ser Lys Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

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

Tyr Ser Gly Asp Trp Asp Tyr Phe Thr Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 151
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 151

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

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

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln
65 70 75 80

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Glu Phe Ser Cys Gly
85 90 95

Ser Ala Asp Cys Thr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 152
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 152

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

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

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

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

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Gly Tyr Arg Thr Tyr
85 90 95

Ser Asp Asp Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 153
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 153

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

Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Ala Gly Asn Asp
20 25 30

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

Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys
50 55 60

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

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Asn Tyr Asp Cys Ser
85 90 95

Ser Ala Asp Cys Asp Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 154
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 154

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

Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu
65 70 75 80

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Ser Gly Asn
85 90 95

Ile Tyr Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 155
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 155

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

Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln
65 70 75 80

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Ser Tyr Tyr Ser Ser
85 90 95

Gly Trp Tyr Arg Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 156
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 156

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

Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Gly Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu
65 70 75 80

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Tyr Phe Trp Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Ile Tyr Ala Phe Trp Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
100 105 110

Ile Lys

<210> 157
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 157

Arg Tyr Tyr Val Ser
1 5

<210> 158
<211> 6

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 158

Ser Tyr Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 159
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 159

Arg Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 160
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 160

Ser Tyr Ile Met Gly
1 5

<210> 161
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 161

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 162
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 162

Ser Ser Ser Met Ile
1 5

<210> 163
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 163

Ile Ile Tyr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 164
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 164

Cys Ile Tyr Ala Gly Ile Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 165
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 165

Ile Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 166
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 166

Phe Ile Tyr Val Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 167
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 167

Ile Ile Tyr Gly Val Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 168
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 168

Phe Ile Ser Lys Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 169
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 169

Phe Leu Asp Tyr Ser His Tyr Thr Thr Gly Gly Tyr Tyr Leu Asp Leu
1 5 10 15

<210> 170
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 170

Asp Pro Tyr His Phe Asp Tyr Gly Ser Leu
1 5 10

<210> 171
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 171

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

<210> 172
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 172

Thr Trp Asp Leu
1

<210> 173
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 173

Asp Asp Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Asn Leu
1 5 10

<210> 174
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 174

Gly Gly Tyr Ser Gly Asp Trp Asp Tyr Phe Thr Leu
1 5 10

<210> 175
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 175

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

<210> 176
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 176

Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Gly Gly Asn Glu Leu Ser
1 5 10

<210> 177
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 177

Gln Ser Ser Gln Ser Val Ala Gly Asn Asp Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 178
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 178

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 179
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 179

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 180
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 180

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Gly Asn Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 181
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 181

Tyr Ala Ser Thr Leu Pro Ser
1 5

<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 182

Ser Ala Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 183
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 183

Tyr Ala Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 184

Gly Ala Ser Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 185
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 185

Asp Ala Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 186
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 186

Gly Ala Phe Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 187
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 187

Gln Gly Glu Phe Ser Cys Gly Ser Ala Asp Cys Thr Ala
1 5 10

<210> 188
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 188

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

<210> 189
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 189

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

<210> 190
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 190

Gln Gly Gly Tyr Ser Gly Asn Ile Tyr Pro
1 5 10

<210> 191
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 191

Gln Gly Ser Tyr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Arg Ala
1 5 10

<210> 192
<211> 15

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 192

Gln Gly Tyr Phe Trp Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Ala Phe Trp Ala
1 5 10 15

<210> 193
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 193

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 194
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 194
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agtaaggact gcacctacag tctcagtagt accctgacgc tgtccaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgtcctcgcc cgtcacaaag 300

tccttcaaca ggggagagtg ttga 324

<210> 195
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 195

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 196
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 196

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300
```

```
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325
```

<210> 197
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 197

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
            100                 105                 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
        115                 120                 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
    130                 135                 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145                 150                 155                 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                165                 170                 175
```

```
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            180                 185                 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
        195                 200                 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    210                 215                 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225                 230                 235                 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                245                 250                 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
            260                 265                 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        275                 280                 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    290                 295                 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305                 310                 315                 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                325                 330                 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
            340                 345                 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
        355                 360                 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    370                 375
```

<210> 198
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 198

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240
```

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 199
<211> 1125
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 199
atgtggttct tgacaactct gctcctttgg gttccagttg atgggcaagt ggacaccaca 60

aaggcagtga tcactttgca gcctccatgg gtcagcgtgt tccaagagga aaccgtaacc 120

ttgcactgtg aggtgctcca tctgcctggg agcagctcta cacagtggtt tctcaatggc 180

acagccactc agacctcgac ccccagctac agaatcacct ctgccagtgt caatgacagt 240

ggtgaataca ggtgccagag aggtctctca gggcgaagtg accccataca gctggaaatc 300

cacagaggct ggctactact gcaggtctcc agcagagtct tcacggaagg agaacctctg 360

gccttgaggt gtcatgcgtg gaaggataag ctggtgtaca atgtgcttta ctatcgaaat 420

ggcaaagcct ttaagttttt ccactggaat tctaacctca ccattctgaa aaccaacata 480

agtcacaatg gcacctacca ttgctcaggc atgggaaagc atcgctacac atcagcagga 540

atatctgtca ctgtgaaaga gctatttcca gctccagtgc tgaatgcatc tgtgacatcc 600

ccactcctgg aggggaatct ggtcaccctg agctgtgaaa caaagttgct cttgcagagg 660

cctggtttgc agctttactt ctccttctac atgggcagca agaccctgcg aggcaggaac 720

acatcctctg aataccaaat actaactgct agaagagaag actctgggtt atactggtgc 780

gaggctgcca cagaggatgg aaatgtcctt aagcgcagcc ctgagttgga gcttcaagtg 840

cttggcctcc agttaccaac tcctgtctgg tttcatgtcc ttttctatct ggcagtggga 900

ataatgtttt tagtgaacac tgttctctgg gtgacaatac gtaaagaact gaaaagaaag 960

aaaaagtggg atttagaaat ctctttggat tctggtcatg agaagaaggt aatttccagc 1020

cttcaagaag acagacattt agaagaagag ctgaaatgtc aggaacaaaa agaagaacag 1080

ctgcaggaag gggtgcaccg gaaggagccc cagggggcca cgtag 1125

<210> 200
<211> 951
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 200
atgactatgg agacccaaat gtctcagaat gtatgtccca gaaacctgtg gctgcttcaa 60

ccattgacag ttttgctgct gctggcttct gcagacagtc aagctgctcc cccaaaggct 120

gtgctgaaac ttgagccccc gtggatcaac gtgctccagg aggactctgt gactctgaca 180

tgccaggggg ctcgcagccc tgagagcgac tccattcagt ggttccacaa tgggaatctc 240

attcccaccc acacgcagcc cagctacagg ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag 300

tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc agcgaccctg tgcatctgac tgtgctttcc 360

gaatggctgg tgctccagac ccctcacctg gagttccagg agggagaaac catcatgctg 420

aggtgccaca gctggaagga caagcctctg gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa 480

tcccagaaat tctcccattt ggatcccacc ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac 540

agtggtgatt accactgcac aggaaacata ggctacacgc tgttctcatc caagcctgtg 600

accatcactg tccaagtgcc cagcatgggc agctcttcac caatgggggt cattgtggct 660

gtggtcattg cgactgctgt agcagccatt gttgctgctg tagtggcctt gatctactgc 720

aggaaaaagc ggatttcagc caattccact gatcctgtga aggctgccca atttgagcca 780

cctggacgtc aaatgattgc catcagaaag agacaacttg aagaaaccaa caatgactat 840

gaaacagctg acggcggcta catgactctg aaccccaggg cacctactga cgatgataaa 900

aacatctacc tgactcttcc tcccaacgac catgtcaaca gtaataacta a 951

<210> 201
<211> 954
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 201
atgactatgg agacccaaat gtctcagaat gtatgtccca gaaacctgtg gctgcttcaa 60

ccattgacag ttttgctgct gctggcttct gcagacagtc aagctgcagc tcccccaaag 120

gctgtgctga aacttgagcc cccgtggatc aacgtgctcc aggaggactc tgtgactctg 180

acatgccagg gggctcgcag ccctgagagc gactccattc agtggttcca caatgggaat 240

ctcattccca cccacacgca gcccagctac aggttcaagg ccaacaacaa tgacagcggg 300

gagtacacgt gccagactgg ccagaccagc ctcagcgacc ctgtgcatct gactgtgctt 360

tccgaatggc tggtgctcca gacccctcac ctggagttcc aggagggaga aaccatcatg 420

ctgaggtgcc acagctggaa ggacaagcct ctggtcaagg tcacattctt ccagaatgga 480

aaatcccaga aattctccca tttggatccc accttctcca tcccacaagc aaaccacagt 540

cacagtggtg attaccactg cacaggaaac ataggctaca cgctgttctc atccaagcct 600

gtgaccatca ctgtccaagt gcccagcatg ggcagctctt caccaatggg gatcattgtg 660

gctgtggtca ttgcgactgc tgtagcagcc attgttgctg ctgtagtggc cttgatctac 720

tgcaggaaaa agcggatttc agccaattcc actgatcctg tgaaggctgc ccaatttgag 780

ccacctggac gtcaaatgat tgccatcaga aagagacaac ttgaagaaac caacaatgac 840

tatgaaacag ctgacggcgg ctacatgact ctgaacccca gggcacctac tgacgatgat 900

aaaaacatct acctgactct tcctcccaac gaccatgtca acagtaataa ctaa 954

<210> 202
<211> 876
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 202
atgggaatcc tgtcattctt acctgtcctt gccactgaga gtgactgggc tgactgcaag 60

tccccccagc cttggggtca tatgcttctg tggacagctg tgctattcct ggctcctgtt 120

gctgggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgctgaaac tcgagcccca gtggatcaac 180

gtgctccagg aggactctgt gactctgaca tgccgggggа ctcacagccc tgagagcgac 240

tccattcagt ggttccacaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg 300

ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc 360

agcgaccctg tgcatctgac tgtgctttct gagtggctgg tgctccagac ccctcacctg 420

gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg 480

gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccgttc ggatcccaac 540

ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtggtgatt accactgcac aggaaacata 600

ggctacacgc tgtactcatc caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca 660

ccgatgggga tcattgtggc tgtggtcact gggattgctg tagcggccat tgttgctgct 720

gtagtggcct tgatctactg caggaaaaag cggatttcag ccaatcccac taatcctgat 780

gaggctgaca aagttggggc tgagaacaca atcacctatt cacttctcat gcacccggat 840

gctctggaag agcctgatga ccagaaccgt atttag 876

<210> 203
<211> 933
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 203
atgggaatcc tgtcattctt acctgtcctt gccactgaga gtgactgggc tgactgcaag 60

tccccccagc cttggggtca tatgcttctg tggacagctg tgctattcct ggctcctgtt 120

gctgggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgctgaaac tcgagcccca gtggatcaac 180

gtgctccagg aggactctgt gactctgaca tgccgggggа ctcacagccc tgagagcgac 240

tccattcagt ggttccacaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg 300

ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc 360

agcgaccctg tgcatctgac tgtgctttct gagtggctgg tgctccagac ccctcacctg 420

gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg 480

gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccgttc ggatcccaac 540

ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtggtgatt accactgcac aggaaacata 600

ggctacacgc tgtactcatc caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca 660

ccgatgggga tcattgtggc tgtggtcact gggattgctg tagcggccat tgttgctgct 720

gtagtggcct tgatctactg caggaaaaag cggatttcag ctctcccagg ataccctgag 780

tgcagggaaa tgggagagac cctccctgag aaaccagcca atcccactaa tcctgatgag 840

gctgacaaag ttggggctga gaacacaatc acctattcac ttctcatgca cccggatgct 900

ctggaagagc ctgatgacca gaaccgtatt tag 933

<210> 204
<211> 765
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 204
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagggt gctcgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccagggagcc tactcccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gttgacgaca gtggagagta caggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgacccggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaagg caggaagtat tttcatcata attctgactt ctacattcca 480

aaagccacac tcaaagacag cggctcctac ttctgcaggg ggcttgttgg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaaggtt tgtcagtgtc aaccatctca 600

tcattctttc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact ccttttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattc gaagctcaac aagagactgg 720

aaggaccata aatttaaatg gagaaaggac cctcaagaca aatga 765

<210> 205
<211> 765
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 205
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagggt gctcgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccagggagcc tactcccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gtcgacgaca gtggagagta caggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgacccggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaagg caggaagtat tttcatcata attctgactt ctacattcca 480

aaagccacac tcaaagacag cggctcctac ttctgcaggg ggctttttgg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaaggtt tggcagtgtc aaccatctca 600

tcattctttc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact ccttttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattc gaagctcaac aagagactgg 720

aaggaccata aatttaaatg gagaaaggac cctcaagaca aatga 765

<210> 206
<211> 702
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 206
atgtggcagc tgctcctccc aactgctctg ctacttctag tttcagctgg catgcggact 60

gaagatctcc caaaggctgt ggtgttcctg gagcctcaat ggtacagcgt gcttgagaag 120

gacagtgtga ctctgaagtg ccagggagcc tactcccctg aggacaattc cacacagtgg 180

tttcacaatg agagcctcat ctcaagccag gcctcgagct acttcattga cgctgccaca 240

gtcaacgaca gtggagagta caggtgccag acaaacctct ccaccctcag tgacccggtg 300

cagctagaag tccatatcgg ctggctgttg ctccaggccc ctcggtgggt gttcaaggag 360

gaagacccta ttcacctgag gtgtcacagc tggaagaaca ctgctctgca taaggtcaca 420

tatttacaga atggcaaaga caggaagtat tttcatcata attctgactt ccacattcca 480

aaagccacac tcaaagatag cggctcctac ttctgcaggg ggcttgttgg gagtaaaaat 540

gtgtcttcag agactgtgaa catcaccatc actcaaggtt tggcagtgtc aaccatctca 600

tcattctctc cacctgggta ccaagtctct ttctgcttgg tgatggtact ccttttgca 660

gtggacacag gactatattt ctctgtgaag acaaacattt ga 702

<210> 207
<211> 374
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 207

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

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser
20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu
35 40 45

Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr Gln
50 55 60

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser
65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro Ile
85 90 95

Gln Leu Glu Ile His Arg Gly Trp Leu Leu Leu Gln Val Ser Ser Arg
100 105 110

Val Phe Thr Glu Gly Glu Pro Leu Ala Leu Arg Cys His Ala Trp Lys
115 120 125

Asp Lys Leu Val Tyr Asn Val Leu Tyr Tyr Arg Asn Gly Lys Ala Phe

130 135 140

Lys Phe Phe His Trp Asn Ser Asn Leu Thr Ile Leu Lys Thr Asn Ile
145 150 155 160

Ser His Asn Gly Thr Tyr His Cys Ser Gly Met Gly Lys His Arg Tyr
165 170 175

Thr Ser Ala Gly Ile Ser Val Thr Val Lys Glu Leu Phe Pro Ala Pro
180 185 190

Val Leu Asn Ala Ser Val Thr Ser Pro Leu Leu Glu Gly Asn Leu Val
195 200 205

Thr Leu Ser Cys Glu Thr Lys Leu Leu Leu Gln Arg Pro Gly Leu Gln
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Phe Tyr Met Gly Ser Lys Thr Leu Arg Gly Arg Asn
225 230 235 240

Thr Ser Ser Glu Tyr Gln Ile Leu Thr Ala Arg Arg Glu Asp Ser Gly
245 250 255

Leu Tyr Trp Cys Glu Ala Ala Thr Glu Asp Gly Asn Val Leu Lys Arg
260 265 270

Ser Pro Glu Leu Glu Leu Gln Val Leu Gly Leu Gln Leu Pro Thr Pro
275 280 285

Val Trp Phe His Val Leu Phe Tyr Leu Ala Val Gly Ile Met Phe Leu
290 295 300

Val Asn Thr Val Leu Trp Val Thr Ile Arg Lys Glu Leu Lys Arg Lys
305 310 315 320

Lys Lys Trp Asp Leu Glu Ile Ser Leu Asp Ser Gly His Glu Lys Lys
325 330 335

Val Ile Ser Ser Leu Gln Glu Asp Arg His Leu Glu Glu Glu Leu Lys
340 345 350

Cys Gln Glu Gln Lys Glu Glu Gln Leu Gln Glu Gly Val His Arg Lys
355 360 365

Glu Pro Gln Gly Ala Thr

370

<210> 208
<211> 316
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 208

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

Ser Gln Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp
35 40 45

Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala
50 55 60

Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
65 70 75 80

Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp
100 105 110

Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro
115 120 125

His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser
130 135 140

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
145 150 155 160

Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln Ala
165 170 175

Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr
180 185 190

Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser
195 200 205

Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Val Ile Val Ala Val Val Ile Ala
210 215 220

Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys
225 230 235 240

Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala Ala
245 250 255

Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg Gln
260 265 270

Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr Met
275 280 285

Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr Leu
290 295 300

Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305 310 315

<210> 209
<211> 317
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 209

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

Ser Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro
35 40 45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly
50 55 60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn
65 70 75 80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn
85 90 95

```
Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser
            100                 105                 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr
        115                 120                 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His
    130                 135                 140

Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly
145                 150                 155                 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln
                165                 170                 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly
            180                 185                 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
        195                 200                 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile Ile Val Ala Val Val Ile
    210                 215                 220

Ala Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr
225                 230                 235                 240

Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala
                245                 250                 255

Ala Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg
            260                 265                 270

Gln Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr
        275                 280                 285

Met Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr
    290                 295                 300

Leu Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305                 310                 315
```

<210> 210
<211> 218
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 210

```
Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1               5                  10                  15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
            20                  25                  30

Ser Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro
        35                  40                  45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly
    50                  55                  60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn
                85                  90                  95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser
            100                 105                 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr
        115                 120                 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His
    130                 135                 140

Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly
145                 150                 155                 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser Arg Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln
                165                 170                 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly
            180                 185                 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
        195                 200                 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
    210                 215
```

<210> 211
<211> 218
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 211

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

Ser Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro
35 40 45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly
50 55 60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn
65 70 75 80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn
85 90 95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser
100 105 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr
115 120 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His
130 135 140

Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln
165 170 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly
180 185 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
195 200 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile

210 215

<210> 212
<211> 291
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 212

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr
100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg
165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys
195 200 205

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
210 215 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala
225 230 235 240

Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Pro
245 250 255

Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn Thr Ile Thr
260 265 270

Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro Asp Asp Gln
275 280 285

Asn Arg Ile
290

<210> 213
<211> 310
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 213

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr
100 105 110

```
Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
        115                 120                 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
    130                 135                 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145                 150                 155                 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg
                165                 170                 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
            180                 185                 190

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys
        195                 200                 205

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
    210                 215                 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala
225                 230                 235                 240

Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Leu Pro
                245                 250                 255

Gly Tyr Pro Glu Cys Arg Glu Met Gly Glu Thr Leu Pro Glu Lys Pro
            260                 265                 270

Ala Asn Pro Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn
        275                 280                 285

Thr Ile Thr Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro
    290                 295                 300

Asp Asp Gln Asn Arg Ile
305                 310
```

<210> 214
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 214

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr
100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg
165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys
195 200 205

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro
210 215

<210> 215
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 215

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp

225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 216
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 216

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 217
<211> 208
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 217

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

```
Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145                 150                 155                 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
            180                 185                 190

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


<210>  218
<211>  208
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens

<400>  218

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
            20                  25                  30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
        35                  40                  45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
    50                  55                  60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65                  70                  75                  80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
                85                  90                  95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
            100                 105                 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
        115                 120                 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
    130                 135                 140
```

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

<210> 219
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 219

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

Val Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Asp Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe His Ile Pro

145 150 155 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile
225 230

<210> 220
<211> 211
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 220

Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Gly Asn Leu Trp Leu Leu Gln Pro Leu
1 5 10 15

Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp Ser Gln Thr Ala Pro Pro
20 25 30

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Asn Val Leu Arg Glu
35 40 45

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gly Gly Ala His Ser Pro Asp Ser Asp
50 55 60

Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
65 70 75 80

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg
85 90 95

Cys Gln Thr Gly Arg Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
100 105 110

Leu Ser Glu Trp Leu Ala Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Arg Glu
115 120 125

```
Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
    130                 135                 140

Ile Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Ile Ala Lys Lys Phe Ser His
145                 150                 155                 160

Met Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Arg Ala Asn His Ser His Ser Gly
                165                 170                 175

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Pro Tyr Ser Ser Lys
            180                 185                 190

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser Val Gly Ser Ser Ser Pro
        195                 200                 205

Met Gly Ile
    210
```

<210> 221
<211> 211
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 221

```
Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Gly Asn Leu Trp Leu Leu Gln Pro Leu
1               5                   10                  15

Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp Ser Gln Thr Ala Pro Pro
            20                  25                  30

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Asn Val Leu Arg Glu
        35                  40                  45

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gly Gly Ala His Ser Pro Asp Ser Asp
    50                  55                  60

Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
65                  70                  75                  80

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg
                85                  90                  95

Cys Gln Thr Gly Arg Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
            100                 105                 110
```

Leu Ser Glu Trp Leu Ala Leu Gln Thr Thr His Leu Glu Phe Arg Glu
115 120 125

Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
130 135 140

Ile Lys Val Ala Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Asn Phe Ser His
145 150 155 160

Met Asn Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
165 170 175

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Pro Tyr Ser Ser Lys
180 185 190

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser Val Gly Ser Ser Ser Pro
195 200 205

Met Gly Ile
210

<210> 222
<211> 211
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 222

Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Gly Asn Leu Trp Leu Leu Gln Pro Leu
1 5 10 15

Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp Ser Gln Thr Ala Pro Pro
20 25 30

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Asn Val Leu Arg Glu
35 40 45

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gly Gly Ala His Ser Pro Asp Ser Asp
50 55 60

Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
65 70 75 80

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg
85 90 95

```
Cys Gln Thr Gly Arg Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
            100                 105                 110

Leu Ser Glu Trp Leu Ala Leu Gln Thr Thr His Leu Glu Phe Arg Glu
        115                 120                 125

Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
    130                 135                 140

Ile Lys Val Ala Phe Phe Gln Asn Gly Ile Ser Lys Lys Phe Ser Pro
145                 150                 155                 160

Met Asn Pro Asn Phe Ser Ile Pro Arg Ala Asn His Ser His Ser Gly
                165                 170                 175

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Pro Tyr Ser Ser Lys
            180                 185                 190

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser Val Gly Ser Ser Ser Pro
        195                 200                 205

Met Gly Ile
    210
```

<210> 223
<211> 217
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 223

```
Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1               5                   10                  15

Ala Asp Cys Lys Ser Ser Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
            20                  25                  30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
        35                  40                  45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Asn Val Leu Arg Glu
    50                  55                  60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gly Gly Ala His Ser Pro Asp Ser Asp
65                  70                  75                  80

Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
```

85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg
100 105 110

Cys Gln Thr Gly Arg Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Ala Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Arg Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Ile Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Ile Ser Lys Lys Phe Ser His
165 170 175

Met Asn Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

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

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
210 215

<210> 224
<211> 208
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 224

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

Gly Met Arg Ala Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Arg Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Thr Ser Ser Tyr Phe Ile Ala Ala Ala Arg
65 70 75 80

Val Asn Asn Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Ser Leu Ser Thr Leu
85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Glu Ser Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Leu Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His Gln Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

<210> 225
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 225

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

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

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

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Ser Phe
50 55 60

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 226
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 226

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

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

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe 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 Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
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> 227
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 227

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
```

```
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 228
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 228

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 229
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 229

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Met Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 230
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 230

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

```
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Met Val Leu Asp Arg Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 231
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 231

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 232
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 232

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

```
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 233
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 233

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15
```

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 234
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 234

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
```

```
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 235
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 235

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

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

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220
```

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 236
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 236

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Met Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 237
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 237

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Met Val Leu Arg Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 238
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 238

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 239
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 239

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 240
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 240

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

```
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 241
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 241

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Thr Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
```

```
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 242
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 242

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

```
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 243
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 243

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
```

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 244
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 244

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Trp Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

```
Thr Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 245
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 245

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
```

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 246
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 246

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 247
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 247

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Trp Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Leu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Thr Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 248
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 248

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Arg Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 249
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 249

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 250
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 250

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Arg Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 251
<211> 328

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 251

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Arg Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Arg Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 252
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 252

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 253
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 253

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 254
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 254

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 255
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 255

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 256
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 256

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15
```

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 257
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 257

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 258
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 258

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 259
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 259

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 260
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 260

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 261
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 261

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 262
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 262

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 263
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 263

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 264
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 264

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 265
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 265

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 266
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 266

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 267
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 267

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 268
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 268

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 269
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 269

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

```
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 270
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 270

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 271
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 271

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 272
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 272

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 273
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 273

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 274
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 274

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 275
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 275

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 276
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 276

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 277
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 277

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 278
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 278

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 279
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 279

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 280
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 280

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 281
<211> 328

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 281

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 282
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 282

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 283
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 283

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 284
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 284

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 285
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 285

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 286
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 286

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 287
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 287

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
```

```
Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 288
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 288

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 289
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 289

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 290
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 290

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

```
His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 291
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 291

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 292
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 292

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 293
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 293

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 294
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 294

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
```

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 295
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 295

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220
```

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 296
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 296

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 297
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 297

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

```
His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 298
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 298

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
```

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 299
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 299

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 300
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 300

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

```
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 301
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 301

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
```

```
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 302
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 302

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 303
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 303

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 304
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 304

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 305
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 305

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 306
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 306

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 307
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 307

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 308
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 308

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 309
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 309

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

```
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 310
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 310

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
```

```
Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 311
<211> 328

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 311

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 312
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 312

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 313
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 313

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 314
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 314

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 315
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 315

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 316
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 316

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 317
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 317

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
```

```
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 318
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 318

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 319
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 319

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 320
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 320

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

```
His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 321
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 321

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 322
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 322

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

```
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 323
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 323

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15
```

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 324
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 324

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
```

```
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 325
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 325

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

```
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 326
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 326

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
```

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 327
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 327

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 328
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 328

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 329
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 329

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

```
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 330
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 330

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 331
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 331

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 332
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 332

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

```
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 333
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 333

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
```

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 334
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 334

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 335
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 335

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 336
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 336

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 337
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 337

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 338
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 338

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 339
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 339

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 340
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 340

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 341
<211> 328

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 341

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 342
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 342

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 343
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 343

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 344
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 344

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 345
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 345

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 346
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 346

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15
```

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 347
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 347

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

```
Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 348
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 348

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 349
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 349

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 350
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 350

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 351
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 351

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 352
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 352

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 353
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 353

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 354
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 354

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

```
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 355
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 355

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 356
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 356

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 357
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 357

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 358
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 358

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 359
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 359

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 360
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 360

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 361
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 361

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 362
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 362

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 363
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 363

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

```
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 364
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 364

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 365
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 365

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 366
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 366

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 367
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 367

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 368
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 368

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 369
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 369

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 370
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 370

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

```
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 371
<211> 328

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 371

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 372
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 372

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 373
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 373

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 374
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 374

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 375
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 375

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

```
Val Val Val Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 376
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 376

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15
```

```
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

```
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 377
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 377

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
```

```
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 378
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 378

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 379
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 379

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
```

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 380
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 380

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

```
His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```

<210> 381
<211> 328
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự tổng hợp nhân tạo

<400> 381

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Ile Asp Val Ala His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
            180                 185                 190

His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

```
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
                325
```