



(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)



1-0049637

(51)^{2020.01} C07K 16/28; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2022-00052

(22) 12/06/2020

(86) PCT/US2020/037566 12/06/2020

(87) WO2020/252366 17/12/2020

(30) 62/861,708 14/06/2019 US

(45) 25/08/2025 449

(43) 25/04/2022 409A

(73) TENEOBIO, INC. (US)

One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320, United States of America

(72) TRINKLEIN, Nathan (US); RANGASWAMY, Udaya (IN); IYER, Suhasini (IN); PRABHAKAR, Kirthana (IN); UGAMRAJ, Harshad (IN).

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

(54) KHÁNG THỂ ĐA ĐẶC HIỆU BAO GỒM ĐƠN VỊ LIÊN KẾT THỨ NHẤT CÓ ÁI LỰC LIÊN KẾT VỚI CD22 VÀ ĐƠN VỊ LIÊN KẾT THỨ HAI CÓ ÁI LỰC LIÊN KẾT VỚI CD3, VÀ CHẾ PHẨM DƯỢC BAO GỒM KHÁNG THỂ ĐA ĐẶC HIỆU NÀY

(21) 1-2022-00052

(57) Sáng chế đề cập đến các kháng thể chuỗi nặng đa đặc hiệu của người (ví dụ, UniAbs™) liên kết với CD22 và CD3, cùng với các phương pháp tạo ra các kháng thể này, các chế phẩm, chứa dược phẩm, chứa các kháng thể này. Sáng chế cũng đề cập đến các kháng thể đa đặc hiệu này hữu ích trong điều trị các rối loạn được đặc trưng bởi sự biểu hiện của CD22.

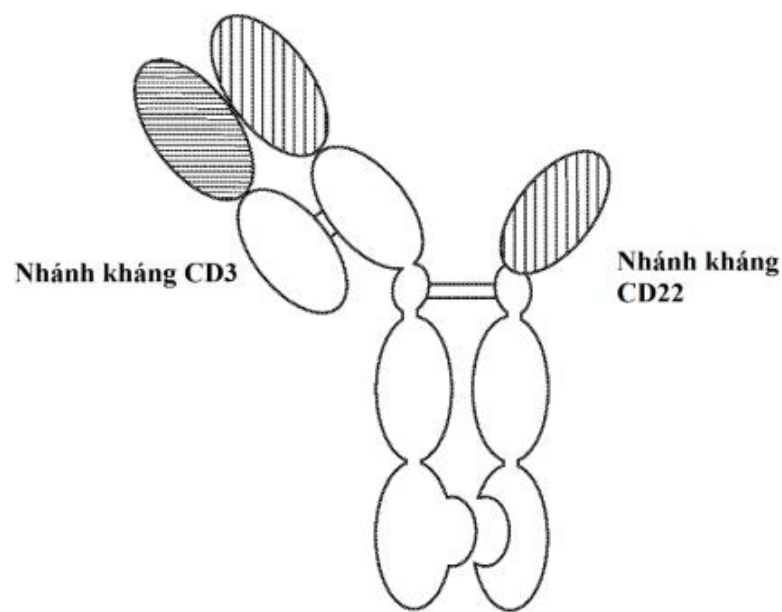


Fig. 14A

Tham chiếu chéo các đơn liên quan

Đơn này yêu cầu hưởng lợi ích của quyền ưu tiên theo ngày nộp đơn của Đơn yêu cầu cấp Bằng sáng chế Tạm thời Mỹ số 62/861,708, được nộp vào ngày 14 tháng 6 năm 2019, phần bộc lộ của đơn này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Danh mục trình tự

Đơn này chứa Danh mục Trình tự mà đã được nộp bằng hình thức điện tử ở định dạng ASCII và được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn. Bản sao ASCII đã nêu, được tạo ra vào ngày 10 tháng 7 năm 2020, được đặt tên là TNO-0017-WO_SL.txt và có dung lượng là 115.348 byte.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này đề cập đến các kháng thể chuỗi nặng, đa đặc hiệu của người (ví dụ, UniAb™) liên kết với CD22 và CD3. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp sản xuất các kháng thể như vậy, chế phẩm, bao gồm cả chế phẩm được, chứa các kháng thể như vậy, và cách sử dụng chúng để điều trị các rối loạn mà đặc trưng bởi quá trình biểu hiện CD22.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

CD22

CD22, còn được gọi là SIGLEC-2 (UniProt P20273), là một thụ thể bề mặt tế bào được biểu hiện trên các tế bào B trưởng thành. CD22 chứa nhiều miền Ig và là thành viên của siêu họ globulin miễn dịch. Miền ngoại bào của CD22 tương tác với các gốc axit sialic, bao gồm các gốc có mặt trên protein bề mặt tế bào CD45. CD22 được cho là hoạt động như một thụ thể ức chế quá trình truyền tín hiệu của thụ thể tế bào B. Cùng với CD20 và CD19, sự biểu hiện bị hạn chế của CD22 trên tế bào B khiến nó trở thành đích hấp dẫn để điều trị các bệnh ác tính tế bào B. Các kháng thể đơn dòng đặc hiệu với CD22 đã được mô tả trong tài liệu (ví dụ, Jabbour, Elias, và đồng tác giả “Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia.” *Blood* 125.26 (2015): 4010-4016) và đã được sử dụng trong điều trị như các kháng thể đơn dòng tiêu chuẩn (ví dụ, epratuzumab) cũng như các thể liên hợp kháng thể-drug chất (inotuzumab ozogamicin). Ngoài ra, tế bào T thụ thể kháng nguyên thể khả năng kháng CD22 đã được sử dụng trong lâm sàng để điều trị bệnh bạch cầu (Fry, Terry J., và đồng tác giả “CD22-targeted CAR T cells induce

remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy.” *Nature medicine* (2017)).

Các kháng thể chuỗi nặng

Ở kháng thể IgG thông thường, sự gắn liền của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ một phần là do sự tương tác kỵ nước giữa vùng hằng định chuỗi nhẹ và miền hằng định CH1 của chuỗi nặng. Có các gốc phụ thêm ở vùng khung 2 (FR2) và vùng khung 4 (FR4) của chuỗi nặng mà cũng góp phần vào sự tương tác kỵ nước này giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Tuy nhiên, đã biết rằng huyết thanh của họ lạc đà (phân bộ Tylopoda mà bao gồm lạc đà thường, lạc đà một bướu và lạc đà không bướu) chứa loại kháng thể chính riêng chỉ hợp thành từ các chuỗi H theo cặp (các kháng thể chỉ có chuỗi nặng hoặc UniAbTM). UniAbTM của *Họ Lạc đà* (*Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus*, *Lama glama*, *Lama guanaco*, *Lama alpaca* và *Lama vicugna*) có cấu trúc đặc thù gồm một miền biến đổi đơn lẻ (VHH), vùng bản lề và hai miền hằng định (CH2 và CH3), các miền này tương đồng ở mức cao với miền CH2 và miền CH3 của các kháng thể cổ điển. Các UniAbTM này thiếu miền thứ nhất của vùng hằng định (CH1) mà có mặt trong hệ gen, nhưng được tách ghép vùng nội ra trong suốt quá trình chế biến ARN thông tin. Sự thiếu vắng miền CH1 giải thích sự thiếu vắng chuỗi nhẹ trong UniAbTM, vì miền này là nơi neo móc của miền hằng định của chuỗi nhẹ. Các UniAbTM như vậy phát triển một cách tự nhiên để đem lại tính đặc hiệu liên kết kháng nguyên và ái lực cao bởi ba CDR từ các kháng thể thông thường hoặc mảnh của chúng (Muyldermans, 2001; *J Biotechnol* 74:277–302; Revets và đồng tác giả, 2005; *Expert Opin Biol Ther* 5:111–124). Cá sụn, như cá mập, cũng đã phát triển một loại globulin miễn dịch khác biệt, được gọi tên là IgNAR, loại này thiếu các chuỗi polypeptit nhẹ và hợp thành toàn bộ bởi chuỗi nặng. Các phân tử IgNAR có thể được thao tác bằng kỹ thuật phân tử để tạo ra miền biến đổi của chuỗi polypeptit nặng đơn lẻ (vNAR) (Nuttall và đồng tác giả, *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall và đồng tác giả, *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley và đồng tác giả, *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)).

Khả năng của các kháng thể chỉ có chuỗi nặng không có chuỗi nhẹ trong việc liên kết kháng nguyên được thiết lập vào những năm 1960 (Jaton và đồng tác giả, (1968) *Biochemistry*, 7, 4185-4195). Chuỗi nặng globulin miễn dịch được tách về mặt vật lý khỏi chuỗi nhẹ đã giữ lại 80% hoạt tính liên kết kháng nguyên so với kháng thể dạng

tetrame. Sitia và đồng tác giả, (1990) *Cell*, 60, 781-790 đã chứng minh rằng việc loại bỏ miền CH1 khỏi gen μ được tái sắp xếp của chuột nhắt tạo ra kháng thể chỉ có chuỗi nặng, không có chuỗi nhẹ, trong sản phẩm nuôi cấy tế bào động vật có vú. Các kháng thể được tạo ra đã giữ lại tính đặc hiệu liên kết VH và chức năng tác động.

Có thể tạo ra các kháng thể chuỗi nặng có tính đặc hiệu và ái lực cao chống lại một loạt kháng nguyên thông qua phương pháp gây miễn dịch (van der Linden, R. H., và đồng tác giả, *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)) và phần VHH có thể được tạo dòng vô tính và biểu hiện một cách dễ dàng ở nấm men (Frenken, L. G. J., và đồng tác giả, *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Mức biểu hiện, độ hòa tan và tính ổn định của chúng là cao hơn một cách đáng kể so với mức biểu hiện, độ hòa tan và tính ổn định của các mảnh F(ab) hoặc Fv cổ điển (Ghahroudi, M. A. và đồng tác giả, *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)).

Chuột nhắt mà trong đó ổ gen chuỗi nhẹ (L) λ (lambda) và/hoặc ổ gen chuỗi L λ và κ (kappa) đã được bất hoạt về mặt chức năng và các kháng thể được tạo ra bằng chuột nhắt như vậy được mô tả trong tài liệu: các Bằng sáng chế Mỹ số 7,541,513 và 8,367,888. Quá trình sản xuất tái tổ hợp các kháng thể chỉ có chuỗi nặng ở chuột nhắt và chuột cống đã được ghi nhận, ví dụ, trong tài liệu: WO2006008548; Công bố Đơn Mỹ số 20100122358; Nguyen và đồng tác giả, 2003, *Immunology*; 109(1), 93-101; Brüggemann và đồng tác giả, *Crit. Rev. Immunol.*; 2006, 26(5):377-90; và Zou và đồng tác giả, 2007, *J Exp Med*; 204(13): 3271–3283. Quá trình sản xuất chuột cống khuyết thiếu thông qua phương pháp vi tiêm phôi thai các nucleaza dạng ngón tay-kẽm được mô tả trong tài liệu: Geurts và đồng tác giả, 2009, *Science*, 325(5939):433. Các kháng thể chỉ có chuỗi nặng tan được và động vật gặm nhấm chuyển gen chứa ổ gen chuỗi nặng khác nguồn gốc tạo ra các kháng thể như vậy được mô tả trong tài liệu: các Bằng sáng chế Mỹ số 8,883,150 và 9,365,655. Các cấu trúc CAR-T bao gồm các kháng thể miền đơn trong vai trò là miền liên kết (hướng đích) được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Iri-Sofla và đồng tác giả, 2011, *Experimental Cell Research* 317:2630-2641 và Jamnani và đồng tác giả, 2014, *Biochim Biophys Acta*, 1840:378-386.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các khía cạnh của sáng chế đề cập đến các kháng thể chuỗi nặng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, UniAb™, có ái lực liên kết với CD22. Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến các phương pháp sản xuất các kháng thể như vậy, các chế phẩm

chứa các kháng thể như vậy, và cách sử dụng chúng trong việc điều trị các rối loạn mà đặc trưng bởi quá trình biểu hiện CD22.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu mà liên kết với CD3, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm: (a) trình tự CDR1 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 85; và/hoặc (b) trình tự CDR2 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 86; và/hoặc (c) trình tự CDR3 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 87; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, các trình tự CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi nặng có mặt trong khung VH của người. Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các trình tự CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi nặng ở khung VH của người, trong đó mỗi trình tự CDR bao gồm trình tự có độ đồng nhất ít nhất 85% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự có các SEQ ID NO:85-87; và hợp chất liên kết này cũng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm: (a) trình tự CDR1 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 85; và (b) trình tự CDR2 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 86; và (c) trình tự CDR3 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở SEQ ID NO: 87; và hợp chất liên kết này cũng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87; và hợp chất liên kết này cũng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 ở khung VL của người, trong đó mỗi trình tự CDR bao gồm trình tự với 3 đột biến thể axit amin hoặc ít hơn so với trình tự CDR hoặc tập hợp các trình tự CDR trong SEQ ID NO: 92; hoặc trong đó các trình tự CDR bao gồm trình tự có độ đồng nhất trình tự ít nhất 85% với trình tự CDR hoặc tập hợp các trình tự CDR trong SEQ ID NO: 92. Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90. Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 91. Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91. Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 92.

Theo một số phương án, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin có SEQ ID NO: 92.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm: (a) CDR1 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin có các SEQ ID NO: 1 đến 10; và/hoặc (b) CDR2 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin có các SEQ ID NO: 11 đến 17; và/hoặc (c) CDR3 có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin có các SEQ ID NO: 18 đến 23. Theo một số phương án, các trình tự CDR1, CDR2, và CDR3 của đơn vị liên kết thứ nhất có mặt trong vùng khung của người. Theo một số phương án, đơn vị liên kết thứ nhất còn bao gồm trình tự vùng hằng định chuỗi nặng khi thiếu vắng trình tự CH1.

Theo một số phương án, đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm: (a) trình tự CDR1 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 1 đến 10; và/hoặc (b) trình tự CDR2 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 11 đến 17; và/hoặc (c) trình tự CDR3 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 18 đến 23.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: (a) trình tự CDR1 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 1 đến 10; và (b) trình tự CDR2 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 11 đến 17; và (c) trình tự CDR3 được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 18 đến 23.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: (a) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 11, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 18; (b) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 19; hoặc (c) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 20. Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự có các SEQ ID NO: 24 đến 84. Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 24 đến 84. Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng là SEQ ID NO: 24.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết

với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm: (a) trình tự CDR1 có công thức: G X₁ S I X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ Y (SEQ ID NO: 104), trong đó X₁ là D hoặc G; X₂ là S, T, I hoặc N; X₃ là S hoặc D; X₄ là G, S hoặc N; X₅ là D, G hoặc S; và X₆ là Y hoặc H; và (b) trình tự CDR2 có công thức: X₇ X₈ Y X₉ G X₁₀ X₁₁ (SEQ ID NO: 105) trong đó X₇ là I hoặc V; X₈ là Y hoặc H; X₉ là S hoặc T; X₁₀ là A, V hoặc S; và X₁₁ là T hoặc A; và (c) trình tự CDR3 có công thức: X₁₂ R X₁₃ D S S X₁₄ W R S (SEQ ID NO: 106) trong đó X₁₂ là T, A hoặc K; X₁₃ là D hoặc E; và X₁₄ là N hoặc S.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 trong khung VH của người, trong đó các trình tự CDR gồm trình tự có hai đột biến thể hoặc ít hơn ở trình tự CDR được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 1-23.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 trong khung VH của người, trong đó các trình tự CDR được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 1-23.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm: (a) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 11, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 18; hoặc (b) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 19; hoặc (c) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 20, trong khung VH của người.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu là đặc hiệu kép. Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu là ở dạng thức CAR-T.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87, trong khung VH của người; (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ

ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và các trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90, ở khung VL của người; và (iii) miền liên kết kháng nguyên của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 11, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 18, trong khung VH của người.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87, trong khung VH của người; (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và các trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90, ở khung VL của người; và (iii) miền liên kết kháng nguyên của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 19, trong khung VH của người.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm hợp chất liên kết đa đặc hiệu bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87, trong khung VH của người; (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và các trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90, ở khung VL của người; và (iii) miền liên kết kháng nguyên của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22, bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 20, trong khung VH của người.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu này bao gồm vùng Fc của IgG1 người. Theo một số phương án, vùng Fc của IgG1 người là vùng Fc bất hoạt của IgG1 người. Theo một số phương án, hợp chất liên kết đa đặc hiệu này bao gồm vùng Fc của IgG4 người. Theo một số phương án, vùng Fc của IgG4 người là vùng Fc bất hoạt của IgG4 người.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các chế phẩm dược chứa hợp chất liên kết đa đặc hiệu như được mô tả trong bản mô tả này.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các phương pháp dùng cho việc điều trị rối loạn tế bào B đặc trưng bởi quá trình biểu hiện CD22, bao gồm việc cho đối tượng có rối loạn đã nêu dùng hợp chất liên kết đa đặc hiệu hoặc chế phẩm dược như được mô tả trong bản mô tả này.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm việc sử dụng hợp chất liên kết đa đặc hiệu trong việc bào chế dược phẩm dùng cho việc điều trị rối loạn tế bào B đặc trưng bởi quá trình biểu hiện CD22.

Theo một số phương án, rối loạn này là u bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL). Theo một số phương án, rối loạn này là u bạch huyết không phải thể Hodgkin (NHL). Theo một số phương án, rối loạn này là luput ban đỏ toàn thân (SLE). Theo một số phương án, rối loạn này là viêm đa khớp dạng thấp (RA). Theo một số phương án, rối loạn này là bệnh đa xơ cứng (MS).

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các polynucleotit mã hóa hợp chất liên kết đa đặc hiệu như được mô tả trong bản mô tả này. Các khía cạnh của sáng chế bao gồm véc-tơ bao gồm các polynucleotit như được mô tả trong bản mô tả này. Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các tế bào bao gồm các véc-tơ như được mô tả trong bản mô tả này.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm phương pháp sản xuất hợp chất liên kết đa đặc hiệu như được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm việc làm tăng trưởng tế bào như được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện cho phép biểu hiện hợp chất liên kết này, và phân lập hợp chất liên kết khỏi tế bào.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các phương pháp sản xuất hợp chất liên kết đa đặc hiệu như được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm việc gây miễn dịch chuột UniRat bằng CD22 và nhận diện các trình tự chuỗi nặng liên kết CD22.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các phương pháp điều trị, bao gồm việc cho cá thể dùng liều hữu hiệu của hợp chất liên kết đa đặc hiệu như được mô tả trong bản mô tả này, hoặc chế phẩm dược như được mô tả trong bản mô tả này.

Các khía cạnh này và các khía cạnh khác nữa sẽ được giải thích thêm trong phần còn lại của sáng chế này, bao gồm cả phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1A là biểu đồ mô tả tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 (Daudi) bằng cách sử dụng các tế bào T pan nghĩ của người

FIG. 1B là biểu đồ mô tả các đường cong đáp ứng liều của sự giải phóng xytokin bởi các tế bào T pan nghĩ của người được ủ với các tế bào dương tính với CD22 (Daudi) và được xử lý với hợp chất liên kết đa đặc hiệu kháng CD22xCD3_F2F và đối chứng dương.

FIG. 2A là biểu đồ mô tả tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 (SUDHL10) bằng cách sử dụng các tế bào T pan nghỉ của người.

FIG. 2B là biểu đồ mô tả các đường cong đáp ứng liều của sự giải phóng xytokin bởi các tế bào T pan nghỉ của người được ủ với các tế bào dương tính với CD22 (SUDHL10) và được xử lý với hợp chất liên kết đa đặc hiệu kháng CD22xCD3_F2F và đối chứng dương.

FIG. 3A thể hiện một loạt các biểu đồ mô tả tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 (RI-1) bằng cách sử dụng các tế bào T pan nghỉ của người.

FIG. 3B thể hiện một loạt các biểu đồ mô tả các đường cong đáp ứng liều của sự giải phóng xytokin bởi các tế bào T pan nghỉ của người được ủ với các tế bào dương tính với CD22 (RI-1) và được xử lý với hợp chất liên kết đa đặc hiệu kháng CD22xCD3_F2F và đối chứng dương.

FIG. 4 thể hiện một loạt các biểu đồ mô tả tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 bằng cách sử dụng các tế bào T pan được hoạt hóa của người.

FIG. 5 thể hiện một loạt các biểu đồ mô tả khả năng liên kết tế bào của các kháng thể đặc hiệu kép kháng CD22 và CD3.

FIG. 6 thể hiện kế hoạch điều trị để xác định độ hiệu nghiệm *in vivo* của hợp chất liên kết đa đặc hiệu kháng CD22xCD3_F2F trong các mô ghép dị loài Daudi.

FIG. 7 là biểu đồ mô tả thể tích khối u trung bình ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 8 là biểu đồ mô tả thể trọng ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 9 là biểu đồ mô tả sự thay đổi thể trọng theo phần trăm ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 10 là biểu đồ mô tả thể tích khối u trung bình ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 11 thể hiện một loạt các biểu đồ mô tả các phép đo khối u của cá thể ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 12 là biểu đồ mô tả thể trọng ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 13 là biểu đồ mô tả sự thay đổi thể trọng theo phần trăm ở dạng hàm số theo ngày sau khi cấy khối u trong các mô ghép dị loài Daudi của chuột.

FIG. 14A là giản đồ minh họa hợp chất liên kết đặc hiệu kép có một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD3 và một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD22.

FIG. 14B là hình minh họa các cấu trúc CAR-T khác nhau mà có thể kết hợp một hoặc nhiều miền liên kết theo các phương án của sáng chế.

FIG. 15A là giản đồ minh họa phân tử liên kết đặc hiệu kép có một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD3 và một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD22 (có hóa trị một, đơn đặc hiệu đối với CD22).

FIG. 15B là giản đồ minh họa phân tử liên kết đặc hiệu kép có một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD3 và hai đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD22 (có hóa trị hai, đơn đặc hiệu đối với CD22).

FIG. 15C là giản đồ minh họa phân tử liên kết đặc hiệu kép có một đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD3 và hai đơn vị liên kết mà liên kết đặc hiệu với CD22 (có hóa trị hai, có hai paratop đối với CD22).

FIG. 16 là bảng thể hiện dữ liệu về các hoạt tính sinh học khác nhau của các kháng thể kháng CD22 theo các phương án của sáng chế.

FIG. 17 là một loạt các biểu đồ thể hiện hiệu giá huyết thanh ở dạng hàm số của độ pha loãng.

Mô tả chi tiết về các phương án được ưu tiên

Quá trình thực hành sáng chế này sẽ sử dụng, trừ khi được biểu lộ khác, các kỹ thuật thông thường của sinh học phân tử (bao gồm cả các kỹ thuật tái tổ hợp), vi sinh vật học, sinh học tế bào, hóa sinh học, và miễn dịch học, phần này là trong phạm vi kỹ năng của lĩnh vực kỹ thuật này. Các kỹ thuật như vậy được giải thích một cách đầy đủ trong tài liệu chuyên ngành, như, “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, lần in thứ hai (Sambrook và đồng tác giả, 1989); “Oligonucleotide Synthesis” (M. J. Gait, ed., 1984); “Animal Cell Culture” (R. I. Freshney, ed., 1987); “Methods in Enzymology” (Academic Press, Inc.); “Current Protocols in Molecular Biology” (F. M. Ausubel và đồng tác giả, eds., 1987, và các phần cập nhật định kỳ); “PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis và đồng tác giả, ed., 1994); “A Practical Guide to Molecular Cloning” (Perbal

Bernard V., 1988); “Phage Display: A Laboratory Manual” (Barbas và đồng tác giả, 2001); Harlow, Lane và Harlow, Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol No. I, Cold Spring Harbor Laboratory (1998); và Harlow và Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory; (1988).

Trường hợp một khoảng gồm các trị số được đề xuất, thì cần phải hiểu rằng mỗi trị số xen giữa, đến một phần mười của đơn vị của giới hạn dưới trừ khi ngữ cảnh quy định khác một cách rõ ràng, giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng đó và khoảng bất kỳ khác được nêu ra hoặc trị số xen giữa trong khoảng được nêu đó, được bao quát trong phạm vi sáng chế. Giới hạn trên và giới hạn dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể được lấy một cách độc lập vào các khoảng nhỏ hơn, và cũng được bao quát trong phạm vi sáng chế, tùy thuộc vào giới hạn bị loại trừ một cách cụ thể bất kỳ trong khoảng được nêu ra này. Trường hợp khoảng được nêu ra bao gồm một hoặc cả hai giới hạn trong số các giới hạn này, các khoảng loại trừ một trong hai giới hạn hoặc cả hai giới hạn trong số các giới hạn được lấy vào đó cũng được lấy vào trong sáng chế.

Trừ khi được biểu lộ khác, các gốc kháng thể trong bản mô tả này được đánh số theo hệ thống đánh số Kabat (ví dụ, Kabat và đồng tác giả, Sequences of Immunological Interest. in lần thứ 5 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

Trong phần mô tả dưới đây, nhiều chi tiết cụ thể khác nhau được nêu ra để đem lại sự hiểu biết thấu đáo hơn về sáng chế này. Tuy nhiên, sẽ trở nên sáng tỏ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này rằng sáng chế này có thể được thực hiện mà không có một hoặc nhiều chi tiết trong số các chi tiết cụ thể này. Trong các trường hợp khác, các đặc tính đã biết rõ và các quy trình đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã không được mô tả để tránh làm rối sáng chế.

Tất cả các tài liệu tham chiếu được trích dẫn xuyên suốt sáng chế này, bao gồm cả các đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế và các công bố, được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

I. Định nghĩa

Thuật ngữ “bao gồm” có nghĩa là các phần tử được liệt kê là cần thiết trong chế phẩm/phương pháp/kit, nhưng các phần tử khác có thể được lấy vào để tạo thành chế phẩm/phương pháp/kit v.v. trong phạm vi của điểm yêu cầu bảo hộ.

Thuật ngữ “về cơ bản gồm” có nghĩa là sự giới hạn phạm vi của chế phẩm hoặc phương pháp được mô tả vào các chất liệu hoặc bước được chỉ rõ mà không ảnh hưởng nghiêm trọng đến (các) đặc điểm mới và cơ bản của sáng chế đối tượng.

Thuật ngữ “gồm” có nghĩa là sự loại trừ phần tử, bước, hoặc thành phần bất kỳ không được chỉ rõ ở điểm yêu cầu bảo hộ khởi chế phẩm, phương pháp, hoặc kit.

Các gốc kháng thể trong bản mô tả này được đánh số theo hệ thống đánh số Kabat và hệ thống đánh số Châu Âu. Hệ thống đánh số Kabat thường được sử dụng khi đề cập đến gốc trong miền biến đổi (khoảng các gốc 1-113 của chuỗi nặng) (ví dụ, Kabat và đồng tác giả, *Sequences of Immunological Interest*, in lần thứ 5 *Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.* (1991)). “Hệ thống đánh số Châu Âu” hoặc “chỉ số EU” thường được sử dụng khi đề cập đến một gốc nào đó trong vùng hằng định chuỗi nặng của globulin miễn dịch (ví dụ, chỉ số EU được ghi nhận trong tài liệu: Kabat và đồng tác giả, trên đây). “Chỉ số EU như trong Kabat” được dùng để chỉ cách đánh số gốc của kháng thể IgG1 của người theo EU. Trừ khi được nêu khác trong bản mô tả này, các phần đề cập đến số gốc trong miền biến đổi của các kháng thể có nghĩa là cách đánh số gốc theo hệ thống đánh số Kabat. Trừ khi được nêu khác trong bản mô tả này, các phần đề cập đến số gốc trong miền hằng định của các kháng thể có nghĩa là cách đánh số gốc theo hệ thống đánh số Châu Âu.

Kháng thể, còn được gọi là globulin miễn dịch, thường bao gồm ít nhất một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ, trong đó miền đầu tận cùng amin của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ thì biến đổi về trình tự, do đó, thường được gọi là miền của vùng biến đổi, hoặc miền biến đổi chuỗi nặng (VH) hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL). Hai miền này thường gắn liền để tạo thành vùng liên kết đặc hiệu, mặc dù như sẽ được bàn luận ở đây, cũng có thể thu được khả năng liên kết đặc hiệu bằng các trình tự biến đổi chỉ có chuỗi nặng, và một loạt kiểu sắp đặt phi tự nhiên của các kháng thể là đã biết và được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Kháng thể “chức năng” hoặc “có hoạt tính về mặt sinh học” hoặc phân tử liên kết kháng nguyên (bao gồm cả các kháng thể chỉ có chuỗi nặng và các phân tử giống kháng thể ba chuỗi đa đặc hiệu (ví dụ, đặc hiệu kép) (three chain antibody-TCA, được mô tả trong bản mô tả này) là dạng có khả năng dùng đến một hoặc nhiều hoạt tính trong số các hoạt tính tự nhiên của nó trong các biến cố cấu trúc, điều hòa, sinh hóa hoặc lý sinh học. Ví dụ, kháng thể chức năng hoặc phân tử liên kết khác, ví dụ, TCA, có thể có khả năng

liên kết đặc hiệu kháng nguyên và khả năng liên kết này lại có thể khơi dậy hoặc thay đổi biến cố tế bào hoặc biến cố phân tử như hoạt tính enzym hoặc tải nạp tín hiệu. Kháng thể chức năng hoặc phân tử liên kết khác, ví dụ, TCA, cũng có thể phong bế quá trình hoạt hóa thụ thể bằng phối tử hoặc đóng vai trò là chất chủ vận hoặc chất đối kháng. Năng lực kháng thể hoặc phân tử liên kết khác, ví dụ, TCA, dùng đến một hoặc nhiều hoạt tính trong số các hoạt tính tự nhiên của nó phụ thuộc vào một vài yếu tố, bao gồm cả sự lắp ráp và gấp cuộn đúng đắn của các chuỗi polypeptit.

Thuật ngữ “kháng thể” trong bản mô tả này được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và cụ thể là bao quát các kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, monome, dime, multime, các kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép), kháng thể chỉ có chuỗi nặng, kháng thể ba chuỗi, Fv chuỗi đơn (single chain Fv-scFv), các nano thể, v.v., và còn bao gồm các mảnh kháng thể, với điều kiện là chúng biểu hiện hoạt tính sinh học mong muốn (Miller và đồng tác giả, (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Các kháng thể có thể là của chuột, của người, được nhân tính hóa, thể khảm, hoặc được tạo ra từ loài khác.

Thuật ngữ kháng thể có thể viện dẫn chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ, chuỗi nhẹ có chiều dài đầy đủ, phân tử globulin miễn dịch nguyên vẹn; hoặc phần có hoạt tính về mặt miễn dịch học của polypeptit bất kỳ trong số các polypeptit này, tức là, polypeptit mà bao gồm vị trí liên kết kháng nguyên mà liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch kháng nguyên của đích đang được quan tâm hoặc một phần của nó, các đích như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào ung thư, hoặc các tế bào mà tạo ra các kháng thể tự miễn dịch gắn liền với bệnh tự miễn dịch. Globulin miễn dịch được bộc lộ trong bản mô tả này có thể thuộc loại bất kỳ (ví dụ, IgG, IgE, IgM, IgD, và IgA), nhóm (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân nhóm của phân tử globulin miễn dịch, bao gồm cả phân nhóm được xử lý bằng công nghệ có các phần Fc được thay đổi mà đem lại hoạt tính tế bào tác động giảm hoặc tăng cường. Các globulin miễn dịch có thể được tạo ra từ loài bất kỳ. Theo một khía cạnh, globulin miễn dịch hầu như có nguồn gốc từ người.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ kháng thể thu được từ quần thể của các kháng thể về cơ bản thuần nhất, tức là, các kháng thể riêng biệt bao gồm quần thể này là đồng nhất ngoại trừ các đột biến có trong tự nhiên khả dĩ mà có thể có mặt theo lượng nhỏ. Các kháng thể đơn dòng là đặc hiệu ở mức cao, được dẫn dắt hướng đến một vị trí kháng nguyên đơn lẻ. Hơn nữa, trái ngược với các chế phẩm kháng thể thông thường (đa dòng), chế phẩm này thường bao

gồm các kháng thể khác nhau được dẫn dắt hướng đến các quyết định tổ (epitop) khác nhau, mỗi kháng thể đơn dòng được dẫn dắt hướng đến một quyết định tổ đơn lẻ trên kháng nguyên. Ví dụ, có thể sản xuất kháng thể đơn dòng theo sáng chế này bằng phương pháp khối tế bào lai được mô tả trước tiên bởi Kohler và đồng tác giả, (1975) *Nature* 256:495, và cũng có thể sản xuất kháng thể này thông qua các phương pháp sản xuất protein tái tổ hợp (ví dụ, xem tài liệu: Bằng sáng chế Mỹ số 4,816,567).

Thuật ngữ “biến đổi”, như được sử dụng trong mối liên hệ với các kháng thể, được dùng để chỉ sự việc thực tế là các phần nhất định của các miền biến đổi của kháng thể khác biệt nhiều về trình tự giữa các kháng thể và được sử dụng trong quá trình liên kết và tính đặc hiệu của mỗi kháng thể cụ thể đối với kháng nguyên cụ thể của nó. Tuy nhiên, độ biến đổi không được phân bố đều xuyên suốt các miền biến đổi của các kháng thể. Độ biến đổi được tập trung ở ba đoạn được gọi là vùng siêu biến cả ở miền biến đổi của chuỗi nhẹ và miền biến đổi của chuỗi nặng. Các phần được bảo toàn hơn ở mức cao của các miền biến đổi được gọi là các vùng khung (framework region-FR). Các miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nguyên thể thì mỗi miền bao gồm bốn FR, hầu như sử dụng kiểu sắp đặt tám β , được kết nối bằng ba vùng siêu biến, mà tạo thành các vòng kết nối, và trong một số trường hợp tạo thành một phần của, cấu trúc tám β . Vùng siêu biến ở mỗi chuỗi được giữ cùng nhau ở trạng thái ở gần sát bởi các FR và, bằng vùng siêu biến từ chuỗi kia, góp phần vào việc tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên của các kháng thể (xem Kabat và đồng tác giả, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, in lần thứ 5 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Miền hằng định không liên can một cách trực tiếp đến việc liên kết kháng thể vào kháng nguyên, nhưng biểu hiện các chức năng tác động khác nhau, như sự tham gia của kháng thể vào tính gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc vào kháng thể (antibody dependent cellular cytotoxicity-ADCC).

Thuật ngữ “vùng siêu biến” khi được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ các gốc axit amin của kháng thể mà chịu trách nhiệm về khả năng liên kết kháng nguyên. Vùng siêu biến nhìn chung bao gồm các gốc axit amin từ “vùng quyết định tính hỗ trợ” hay “CDR” (ví dụ, các gốc 31-35 (H1), 50-65 (H2) và 95-102 (H3) ở miền biến đổi của chuỗi nặng; Kabat và đồng tác giả, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, in lần thứ 5 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) và/hoặc các gốc đó từ các gốc 26-32 (H1), 53-55 (H2) và 96-101 (H3) “của vòng

siêu biến” ở miền biến đổi của chuỗi nặng; Chothia và Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Các gốc “Vùng Khung” hay “FR” là các gốc miền biến đổi đó không phải là các gốc vùng siêu biến như được định nghĩa trong bản mô tả này.

Các tên gọi CDR làm ví dụ được thể hiện trong bản mô tả này, tuy nhiên người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng một số định nghĩa về CDR thường hay được sử dụng, bao gồm cả định nghĩa Kabat (xem “Zhao và đồng tác giả, A germline knowledge based computational approach for determining antibody complementarity determining regions.” *Mol Immunol.* 2010;47:694–700), định nghĩa này dựa trên độ biến đổi của trình tự và thường hay được sử dụng nhất. Định nghĩa Chothia là dựa trên vị trí của các vùng vòng cấu trúc (Chothia và đồng tác giả, “Conformations of immunoglobulin hypervariable regions.” *Nature.* 1989; 342:877–883). Các định nghĩa CDR thay thế khác đang được quan tâm bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, định nghĩa được bộc lộ bởi tài liệu: Honegger, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool.” *J Mol Biol.* 2001;309:657–670; Ofran và đồng tác giả, “Automated identification of complementarity determining regions (CDRs) reveals peculiar characteristics of CDRs and B-cell epitopes.” *J Immunol.* 2008;181:6230–6235; Almagro “Identification of differences in the specificity-determining residues of antibodies that recognize antigens of different size: implications for the rational design of antibody repertoires.” *J Mol Recognit.* 2004;17:132–143; và Padlan và đồng tác giả “Identification of specificity-determining residues in antibodies..” *Faseb J.* 1995;9:133–139., mỗi tài liệu trong số các tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn một cách cụ thể.

Các thuật ngữ “kháng thể chỉ có chuỗi nặng”, và “kháng thể chuỗi nặng” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này và được dùng để chỉ, theo nghĩa rộng nhất, các kháng thể, thiếu chuỗi nhẹ của kháng thể thông thường. Cụ thể là, các thuật ngữ này bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, các kháng thể dạng homodime bao gồm miền liên kết kháng nguyên VH và các miền hằng định CH2 và CH3, khi thiếu vắng miền CH1; các biến thể chức năng (liên kết kháng nguyên) của các kháng thể như vậy, các biến thể VH tan được, Ig-NAR bao gồm homodime của một miền biến đổi (V-NAR) và năm miền hằng định giống C (C-NAR) và các mảnh chức năng của chúng; và các kháng thể miền đơn tan được (sUniDabTM). Theo một phương án, kháng thể chỉ có chuỗi nặng được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên vùng biến đổi được hợp thành từ khung 1, CDR1,

khung 2, CDR2, khung 3, CDR3, và khung 4. Theo một phương án khác, kháng thể chỉ có chuỗi nặng này được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và miền CH2 và miền CH3. Theo một phương án khác, kháng thể chỉ có chuỗi nặng này được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và miền CH2. Theo một phương án khác nữa, kháng thể chỉ có chuỗi nặng này được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và miền CH3. Các kháng thể chỉ có chuỗi nặng mà trong đó miền CH2 và/hoặc CH3 được cắt cụt thì cũng được lấy vào trong bản mô tả này. Theo một phương án khác nữa, chuỗi nặng này được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, và ít nhất một miền CH (CH1, CH2, CH3, hoặc CH4) nhưng không có vùng bản lề. Theo một phương án khác nữa chuỗi nặng gồm miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một miền CH (CH1, CH2, CH3, hoặc CH4), và ít nhất một phần của vùng bản lề. Kháng thể chỉ có chuỗi nặng có thể là dưới dạng dime, mà trong đó hai chuỗi nặng được liên kết disulfua hoặc cách khác là, được gắn kết với nhau, theo kiểu cộng hóa trị hoặc không theo kiểu cộng hóa trị. Kháng thể chỉ có chuỗi nặng có thể thuộc về phân nhóm IgG, nhưng các kháng thể thuộc về các phân nhóm khác, như phân nhóm IgM, IgA, IgD và IgE, cũng được lấy vào trong bản mô tả này. Theo một phương án cụ thể, kháng thể chuỗi nặng là thuộc loại phụ IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4, cụ thể là loại phụ IgG1. Theo một phương án, kháng thể chuỗi nặng thuộc loại phụ IgG4, trong đó một hoặc nhiều miền CH được cải biến để làm thay đổi chức năng tác động của kháng thể này. Theo một phương án, kháng thể chuỗi nặng thuộc loại phụ IgG1, trong đó một hoặc nhiều miền CH được cải biến để làm thay đổi chức năng tác động của kháng thể này. Các cách cải biến các miền CH mà làm thay đổi chức năng tác động cũng được mô tả trong bản mô tả này. Các ví dụ không giới hạn về các kháng thể chuỗi nặng được mô tả, ví dụ trong Công bố đơn quốc tế số WO2018/039180, phần bộc lộ của công bố này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một phương án, các kháng thể chỉ có chuỗi nặng trong bản mô tả này được sử dụng làm miền liên kết (hướng đích) của thụ thể kháng nguyên thể khảm (chimeric antigen receptor-CAR). Cụ thể là, định nghĩa này bao gồm các kháng thể chỉ có chuỗi nặng của người được tạo ra bằng chuột cống chuyển gen globulin miễn dịch của người (UniRatTM), được gọi là UniAbTM. Các vùng biến đổi (VH) của UniAbTM được gọi là UniDabTM, và là khối xây dựng đa năng mà có thể được liên kết với vùng Fc hoặc albumin huyết thanh dùng để phát triển phép trị liệu mới có tính đa đặc hiệu, độ công

hiệu tăng và thời gian bán hủy kéo dài. Vì UniAb™ dạng homodime thiếu chuỗi nhẹ và vì vậy, miền VL, kháng nguyên được nhận biết bằng một miền đơn lẻ, tức là, miền biến đổi (miền liên kết kháng nguyên) của chuỗi nặng của kháng thể chuỗi nặng (VH).

“Chuỗi kháng thể nguyên vẹn” như được sử dụng trong bản mô tả này là chuỗi kháng thể bao gồm vùng biến đổi có chiều dài đầy đủ và vùng hằng định (Fc) có chiều dài đầy đủ. Kháng thể “thông thường” nguyên vẹn bao gồm chuỗi nhẹ nguyên vẹn và chuỗi nặng nguyên vẹn, cũng như miền hằng định chuỗi nhẹ (CL) và miền hằng định chuỗi nặng, CH1, bản lề, CH2 và CH3 của IgG được tiết. Các kiểu tương đồng cùng loài khác, như IgM hoặc IgA có thể có các miền CH khác nhau. Các miền hằng định này có thể là các miền hằng định trình tự nguyên thể (ví dụ, miền hằng định trình tự nguyên thể của người) hoặc các biến thể trình tự axit amin của chúng. Kháng thể nguyên vẹn có thể có một hoặc nhiều “chức năng tác động” mà được dùng để chỉ các hoạt tính sinh học có thể quy được cho vùng hằng định Fc (vùng Fc trình tự nguyên thể hoặc vùng Fc biến thể của trình tự axit amin) của kháng thể. Các ví dụ về chức năng tác động của kháng thể bao gồm khả năng liên kết C1q; tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể; khả năng liên kết thụ thể Fc; tính gây độc tế bào do tế bào làm trung gian phụ thuộc vào kháng thể (antibody dependent cell mediated cytotoxicity-ADCC); khả năng thực bào; và khả năng điều hòa giảm các thụ thể bề mặt tế bào. Các biến thể vùng hằng định bao gồm những loại mà thay đổi profin tác động, khả năng liên kết với các thụ thể Fc, và các thuộc tính tương tự.

Tùy thuộc vào trình tự axit amin của Fc (miền hằng định) của chuỗi nặng của chúng, các kháng thể và các protein liên kết kháng nguyên khác nhau có thể được đề xuất ở dạng các nhóm khác nhau. Có năm nhóm chính của các vùng Fc chuỗi nặng: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM, và một vài nhóm trong số các nhóm này có thể được chia thêm thành “phân nhóm” (kiểu tương đồng cùng loài), ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, và IgA2. Các miền hằng định Fc mà tương ứng với các nhóm khác nhau của các kháng thể có thể lần lượt được viện dẫn là α , δ , ϵ , γ , và μ . Các cấu trúc đơn vị con và các kiểu sắp đặt không gian ba chiều của các nhóm khác nhau của các globulin miễn dịch là đã biết rõ. Các dạng Ig bao gồm các dạng cải biến bản lề hoặc các dạng không có bản lề (Roux và đồng tác giả, (1998) *J. Immunol.* 161:4083-4090; Lund và đồng tác giả, (2000) *Eur. J. Biochem.* 267:7246-7256; US 2005/0048572; US 2004/0229310). Các chuỗi nhẹ của các

kháng thể từ loài động vật có xương sống bất kỳ có thể được gán cho một trong hai loại này, được gọi là κ và λ , dựa trên trình tự axit amin của các miền hằng định của chúng.

“Vùng Fc chức năng” có “chức năng tác động” của vùng Fc trình tự nguyên thể. Các ví dụ không giới hạn về chức năng tác động bao gồm khả năng liên kết C1q; CDC; khả năng liên kết thụ thể Fc; ADCC; ADCP; khả năng điều hòa giảm các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B), v.v. Các chức năng tác động như vậy thường đòi hỏi vùng Fc tương tác với thụ thể, ví dụ, các thụ thể Fc γ RI; Fc γ RIIA; Fc γ RIIB1; Fc γ RIIB2; Fc γ RIIIA; Fc γ RIIIB, và thụ thể FcRn ái lực thấp; và có thể được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Fc “chết” hoặc “được bất hoạt” là Fc mà đã được gây đột biến để giữ lại hoạt tính liên quan đến, ví dụ, kéo dài thời gian bán hủy huyết thanh, nhưng hoạt tính này không hoạt hóa thụ thể Fc ái lực cao, hoặc hoạt tính này có ái lực giảm đối với thụ thể Fc.

“Vùng Fc trình tự nguyên thể” bao gồm trình tự axit amin đồng nhất với trình tự axit amin của vùng Fc được tìm thấy trong tự nhiên. Các vùng Fc trình tự nguyên thể của người bao gồm, ví dụ, vùng Fc của IgG1 trình tự nguyên thể của người (các kiểu dị biệt cùng loài A và không A); vùng Fc của IgG2 trình tự nguyên thể của người; vùng Fc của IgG3 trình tự nguyên thể của người; và vùng Fc của IgG4 trình tự nguyên thể của người, cũng như các biến thể có trong tự nhiên của chúng.

“Vùng Fc biến thể” bao gồm trình tự axit amin mà khác biệt với trình tự axit amin của vùng Fc trình tự nguyên thể do bởi ít nhất một dạng cải biến axit amin, tốt hơn, nếu là một hoặc nhiều (các) dạng thay thế axit amin. Tốt hơn, nếu vùng Fc biến thể này có ít nhất một dạng thay thế axit amin so với vùng Fc trình tự nguyên thể hoặc so với vùng Fc của polypeptit mẹ, ví dụ, từ khoảng một đến khoảng mười dạng thay thế axit amin, và tốt hơn, nếu từ khoảng một đến khoảng năm dạng thay thế axit amin trong vùng Fc trình tự nguyên thể hoặc trong vùng Fc của polypeptit mẹ. Tốt hơn, nếu vùng Fc biến thể trong bản mô tả này sẽ có độ tương đồng ít nhất khoảng 80% với vùng Fc trình tự nguyên thể và/hoặc với vùng Fc của polypeptit mẹ, và tốt hơn cả, nếu là độ tương đồng ít nhất khoảng 90% với vùng đó, tốt hơn nữa, nếu là độ tương đồng ít nhất khoảng 95% với vùng đó.

Các trình tự Fc biến thể có thể bao gồm ba dạng thay thế axit amin trong vùng CH2 để làm giảm khả năng liên kết Fc γ RI ở các vị trí theo chỉ số EU là 234, 235, và 237 (xem Duncan và đồng tác giả, (1988) Nature 332:563). Hai dạng thay thế axit amin ở vị

trí liên kết C1q bỏ thể ở các vị trí theo chỉ số EU là 330 và 331 làm giảm mức cố định bỏ thể (xem Tao và đồng tác giả, J. Exp. Med. 178:661 (1993) và Canfield và Morrison, J. Exp. Med. 173:1483 (1991)). Dạng thay thế vào các gốc IgG1 hoặc IgG2 của người ở các vị trí 233-236 và các gốc IgG4 ở các vị trí 327, 330 và 331 làm giảm ADCC và CDC rất nhiều (xem, ví dụ, Armour KL. và đồng tác giả, 1999 Eur J Immunol. 29(8):2613-24; và Shields RL. và đồng tác giả, 2001. J Biol Chem. 276(9):6591-604). Trình tự axit amin IgG1 của người (Số hiệu theo UniProtKB: P01857) được đưa ra trong bản mô tả này ở dạng SEQ ID NO: 93. Trình tự axit amin của IgG4 của người (UniProtKB No. P01861) được đưa ra trong bản mô tả này ở dạng SEQ ID NO: 94. IgG1 đã được bất hoạt được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Boesch, A.W., và đồng tác giả, “Highly parallel characterization of IgG Fc binding interactions”. MAbs, 2014. 6(4): p. 915-27, phần bộc lộ của tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Các biến thể Fc khác là khả dĩ, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, biến thể mà trong đó vùng có khả năng tạo thành liên kết disulfua được xóa bỏ, hoặc mà trong đó các gốc axit amin nhất định được loại bỏ ở đầu mút đầu tận cùng N của Fc nguyên thể, hoặc gốc metionin được bổ sung vào đó. Vì vậy, theo một số phương án, một hoặc nhiều phần Fc của hợp chất liên kết có thể bao gồm một hoặc nhiều đột biến trong vùng bản lề để loại bỏ dạng liên kết disulfua. Theo một phương án khác nữa, có thể loại bỏ hoàn toàn vùng bản lề của Fc. Còn theo một phương án khác, hợp chất liên kết có thể bao gồm biến thể Fc.

Ngoài ra, biến thể Fc có thể được kiến tạo để loại bỏ hoặc về cơ bản làm giảm chức năng tác động bằng cách thay thế (gây đột biến), xóa bỏ hoặc bổ sung các gốc axit amin để đem đến khả năng liên kết bỏ thể hoặc khả năng liên kết thụ thể Fc. Ví dụ, và không phải là sự giới hạn, dạng xóa bỏ có thể xảy ra ở vị trí liên kết bỏ thể, như vị trí liên kết C1q. Các kỹ thuật dùng để điều chế các dẫn xuất trình tự như vậy của mảnh Fc của globulin miễn dịch được bộc lộ trong tài liệu: Các Công bố Bằng sáng chế Quốc tế số WO 97/34631 và WO 96/32478. Ngoài ra, miền Fc có thể được cải biến bằng phương pháp phosphoryl hóa, sulfat hóa, axyl hóa, glycosyl hóa, metyl hóa, farnesyl hóa, axetyl hóa, amit hóa, và các phương pháp tương tự.

Thuật ngữ “kháng thể bao gồm vùng Fc” được dùng để chỉ kháng thể mà bao gồm vùng Fc. Lysin đầu tận cùng C (gốc 447 theo hệ thống đánh số Châu Âu) của vùng Fc có thể được loại bỏ, ví dụ, trong suốt quá trình tinh chế kháng thể hoặc bằng cách xử lý công

nghe tái tổ hợp axit nucleic mã hóa kháng thể. Do vậy, kháng thể có vùng Fc theo sáng chế này có thể bao gồm kháng thể có hoặc không có K447.

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết có các kiểu sắp đặt đa đặc hiệu, kiểu này bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, đặc hiệu kép, tam đặc hiệu, v.v. Một loạt rất nhiều phương pháp và kiểu sắp đặt protein là đã biết và được sử dụng ở các kháng thể đơn dòng đặc hiệu kép (bispecific monoclonal antibody-BsMAB), các kháng thể tam đặc hiệu, v.v.

Các phương pháp khác nhau dùng cho việc sản xuất các kháng thể nhân tạo đa hóa trị đã được phát triển bằng cách dung hợp theo kiểu tái tổ hợp các miền biến đổi của hai kháng thể trở lên. Theo một số phương án, miền liên kết kháng nguyên thứ nhất và miền liên kết kháng nguyên thứ hai trên polypeptit được kết nối bằng gốc liên kết polypeptit. Một ví dụ không giới hạn về gốc liên kết polypeptit như vậy là gốc liên kết GS, có trình tự axit amin của bốn gốc glyxin, sau đó là một gốc serin, và trong đó trình tự này được lặp lại n lần, trong đó n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 10 (SEQ ID NO: 107), như 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, hoặc 9. Các ví dụ không giới hạn về các gốc liên kết như vậy bao gồm GGGGS (SEQ ID NO: 102) (n=1) và GGGSGGGGS (SEQ ID NO: 103) (n=2). Các gốc liên kết thích hợp khác cũng có thể được sử dụng, và được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Chen và đồng tác giả, Adv Drug Deliv Rev. 15 tháng 10 năm 2013; 65(10): 1357-69, phần bộc lộ của tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Thuật ngữ “phân tử giống kháng thể ba chuỗi” hoặc “TCA” được sử dụng trong bản mô tả này để chỉ các phân tử giống kháng thể bao gồm, về cơ bản gồm, hoặc gồm ba đơn vị con polypeptit, mà hai trong số đó bao gồm, về cơ bản gồm, hoặc gồm một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ của kháng thể đơn dòng, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên chức năng của các chuỗi kháng thể như vậy, bao gồm vùng liên kết kháng nguyên và ít nhất một miền CH. Cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ này có tính đặc hiệu liên kết đối với kháng nguyên thứ nhất. Đơn vị con polypeptit thứ ba bao gồm, về cơ bản gồm, hoặc gồm kháng thể chỉ có chuỗi nặng bao gồm phần Fc bao gồm các miền CH2 và/hoặc CH3 và/hoặc CH4, khi thiếu vắng miền CH1, và một hoặc nhiều miền liên kết kháng nguyên (ví dụ, hai miền liên kết kháng nguyên) mà liên kết epitop của kháng nguyên thứ hai hoặc epitop khác của kháng nguyên thứ nhất, trong đó miền liên kết như vậy được tạo ra từ hoặc có độ đồng nhất trình tự với vùng biến đổi của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể. Các phần của vùng biến đổi như vậy có thể được mã hóa bởi các đoạn gen V_H và/hoặc V_L ,

các đoạn gen D và J_H, hoặc các đoạn gen J_L. Vùng biến đổi có thể được mã hóa bởi các đoạn gen V_HDJ_H, V_LDJ_H, V_HJ_L, hoặc V_LJ_L được tái sắp xếp. Protein TCA sử dụng kháng thể chỉ có chuỗi nặng như được định nghĩa ở trên trong bản mô tả này.

Hợp chất liên kết TCA tận dụng “kháng thể chỉ có chuỗi nặng” hoặc “kháng thể chuỗi nặng” hoặc “polypeptit chuỗi nặng” mà, như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là kháng thể chuỗi đơn bao gồm các vùng hằng định chuỗi nặng CH₂ và/hoặc CH₃ và/hoặc CH₄ nhưng không có miền CH₁. Theo một phương án, kháng thể chuỗi nặng được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và các miền CH₂ và CH₃. Theo một phương án khác, kháng thể chuỗi nặng được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và miền CH₂. Theo một phương án khác nữa, kháng thể chuỗi nặng được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, ít nhất một phần của vùng bản lề và miền CH₃. Các kháng thể chuỗi nặng mà trong đó các miền CH₂ và/hoặc CH₃ được cắt cụt cũng được lấy vào bản mô tả này. Theo một phương án khác nữa, chuỗi nặng được hợp thành từ miền liên kết kháng nguyên, và ít nhất một miền CH (CH₁, CH₂, CH₃, hoặc CH₄) nhưng không có vùng bản lề. Kháng thể chỉ có chuỗi nặng có thể là dưới dạng dime, mà trong đó hai chuỗi nặng được liên kết disulfua với nhau, cách khác là, được gắn kết theo kiểu cộng hóa trị hoặc không theo kiểu cộng hóa trị với nhau, và có thể tùy ý bao gồm mặt phân giới không đối xứng giữa hai hoặc nhiều miền trong số các miền CH để tạo thuận lợi cho quá trình ghép cặp đúng đắn giữa các chuỗi polypeptit. Kháng thể chuỗi nặng có thể thuộc về phân nhóm IgG, nhưng các kháng thể thuộc về các phân nhóm khác, như phân nhóm IgM, IgA, IgD và IgE, cũng được lấy vào bản mô tả này. Theo một phương án cụ thể, kháng thể chuỗi nặng có loại phụ IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4, cụ thể là loại phụ IgG1 hoặc loại phụ IgG4. Các ví dụ không giới hạn về hợp chất liên kết TCA được mô tả trong tài liệu, ví dụ, WO2017/223111 và WO2018/052503, phần bộc lộ của tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Các kháng thể chuỗi nặng cấu thành khoảng một phần tư số kháng thể IgG được sản xuất bằng các họ lạc đà, ví dụ, lạc đà thường và lạc đà không bướu (Hamers-Casterman C., và đồng tác giả, Nature. 363, 446-448 (1993)). Các kháng thể này được tạo thành bằng hai chuỗi nặng nhưng không có chuỗi nhẹ. Hậu quả là, phần liên kết kháng nguyên biến đổi được gọi là miền VHH và phần này tiêu biểu cho vị trí liên kết kháng nguyên nguyên vẹn, có trong tự nhiên nhỏ nhất, chỉ có chiều dài khoảng 120 axit amin

(Desmyter, A., và đồng tác giả, *J. Biol. Chem.* 276, 26285-26290 (2001)). Có thể tạo ra các kháng thể chuỗi nặng có tính đặc hiệu và ái lực cao chống lại một loạt kháng nguyên thông qua quá trình gây miễn dịch (van der Linden, R. H., và đồng tác giả, *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)) và phần VHH có thể được tạo dòng vô tính và biểu hiện một cách dễ dàng ở nấm men (Frenken, L. G. J., và đồng tác giả, *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Mức biểu hiện, độ hòa tan và tính ổn định của chúng là cao hơn một cách đáng kể so với mức biểu hiện, độ hòa tan và tính ổn định của các mảnh F(ab) hoặc Fv cổ điển (Ghahroudi, M. A. và đồng tác giả, *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)). Cá mập cũng đã được thể hiện là có một miền giống VH đơn lẻ ở kháng thể của chúng, được đặt tên là VNAR. (Nuttall và đồng tác giả, *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall và đồng tác giả, *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley và đồng tác giả, *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003)).

Thuật ngữ “CD22” và “cụm biệt hóa-22” như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ phân tử thuộc họ các lectin SIGLEC, được tìm thấy trên bề mặt của các tế bào B trưởng thành, và với mức độ ít hơn trên một số tế bào B chưa trưởng thành. Thuật ngữ “CD22” bao gồm protein CD22 của loài người và động vật không phải người bất kỳ, và cụ thể là bao gồm CD22 của người cũng như CD22 của động vật có vú không phải người.

Thuật ngữ “CD22 của người” như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm các biến thể, dạng đồng đẳng và dạng tương đồng loài bất kỳ của CD22 của người (UniProt P20273), bất kể nguồn hoặc phương thức điều chế của nó. Vì vậy, “CD22 của người” bao gồm CD22 của người được biểu hiện một cách tự nhiên bởi các tế bào và CD22 được biểu hiện trên các tế bào được chuyển nhiễm bằng gen CD22 của người.

Các thuật ngữ “kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22”, “kháng thể chỉ có chuỗi nặng CD22”, “kháng thể chuỗi nặng kháng CD22” và “kháng thể chuỗi nặng CD22” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này để chỉ kháng thể chỉ có chuỗi nặng như được định nghĩa trên đây, liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với CD22, bao gồm cả CD22 của người, như được định nghĩa trên đây. Định nghĩa này bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, các kháng thể chuỗi nặng của người được tạo ra bằng động vật chuyển gen, như chuột cống chuyển gen hoặc chuột nhắt chuyển gen biểu hiện globulin miễn dịch của người, bao gồm cả UniRatTM tạo ra các kháng thể UniAbTM kháng CD22 của người, như được định nghĩa trên đây.

“Độ đồng nhất trình tự axit amin tính theo phần trăm (%)” liên quan đến trình tự polypeptit tham chiếu được định nghĩa là tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin ở trình tự ứng viên mà đồng nhất với các gốc axit amin ở trình tự polypeptit tham chiếu, sau khi xếp thẳng hàng các trình tự và đưa vào các khoảng trống, nếu cần thiết, để đạt được độ đồng nhất trình tự tính theo phần trăm tối đa, và không xem các dạng thay thế có tính bảo toàn bất kỳ là một phần của độ đồng nhất trình tự. Có thể đạt được dạng xếp thẳng hàng vì các mục đích xác định độ đồng nhất trình tự axit amin tính theo phần trăm theo các cách khác nhau mà trong phạm vi kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách sử dụng phần mềm vi tính sẵn có cho công chúng như BLAST, BLAST-2, ALIGN hoặc phần mềm Megalign (DNASTAR). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định các thông số thích hợp cho việc xếp thẳng hàng các trình tự, bao gồm cả các thuật toán bất kỳ cần thiết để đạt được mức xếp thẳng hàng tối đa khắp chiều dài đầy đủ của các trình tự đang được so sánh. Tuy nhiên, vì các mục đích trong bản mô tả này, các trị số về độ đồng nhất trình tự axit amin tính theo % được tạo ra bằng cách sử dụng chương trình vi tính so sánh trình tự ALIGN-2.

Kháng thể “được phân lập” là kháng thể mà đã được nhận diện và được tách và/hoặc được thu hồi từ hợp phần của môi trường tự nhiên của nó. Các hợp phần gây nhiễm bẩn của môi trường tự nhiên của nó là chất liệu mà thường cản trở cách sử dụng chẩn đoán hoặc trị liệu của kháng thể, và có thể bao gồm các enzym, các hormon, và chất tan có protein hoặc chất tan không có protein khác. Theo các phương án được ưu tiên, kháng thể sẽ được tinh chế (1) đến hơn 95% theo trọng lượng của kháng thể như được xác định bằng phương pháp Lowry, và tốt hơn cả, nếu hơn 99% theo trọng lượng, (2) đến một mức độ đủ để thu được ít nhất 15 gốc của trình tự axit amin đầu tận cùng N hoặc trình tự axit amin bên trong bằng cách sử dụng thiết bị giải trình tự cóc quay, hoặc (3) đến mức thuần nhất bằng SDS-PAGE trong điều kiện khử hoặc điều kiện không khử bằng cách sử dụng phẩm xanh lam Coomassie hoặc, tốt hơn, nếu là thuốc nhuộm bạc. Kháng thể được phân lập bao gồm kháng thể *in situ* trong các tế bào tái tổ hợp vì ít nhất một hợp phần của môi trường tự nhiên của kháng thể sẽ không có mặt. Tuy nhiên, thông thường, kháng thể được phân lập sẽ được điều chế bằng ít nhất một bước tinh chế.

Các kháng thể theo sáng chế bao gồm các kháng thể đa đặc hiệu. Các kháng thể đa đặc hiệu có nhiều hơn một tính đặc hiệu liên kết. Cụ thể là, thuật ngữ “đa đặc hiệu” bao gồm “đặc hiệu kép” và “tam đặc hiệu”, cũng như các ái lực liên kết đặc hiệu độc lập bậc

cao hơn, như tính đặc hiệu đa epitop bậc cao hơn, cũng như các kháng thể và mảnh kháng thể có hóa trị bốn. Các thuật ngữ “kháng thể đa đặc hiệu”, “kháng thể chỉ có chuỗi nặng đa đặc hiệu”, “kháng thể chuỗi nặng đa đặc hiệu”, “UniAbTM đa đặc hiệu” và “hợp chất liên kết đa đặc hiệu” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa rộng nhất và bao quát tất cả các kháng thể có nhiều hơn một tính đặc hiệu liên kết. Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đa đặc hiệu theo sáng chế này bao gồm các kháng thể liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với một epitop đơn lẻ trên protein CD22, như CD22 của người, và với epitop trên protein khác, ví dụ như, protein CD3 (tức là, hóa trị hai hoặc có một paratop). Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đa đặc hiệu theo sáng chế này bao gồm các kháng thể liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với hai epitop không chồng lấn trở lên trên protein CD22, như CD22 của người (tức là, có hóa trị hai và có hai paratop). Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đa đặc hiệu theo sáng chế này còn bao gồm các kháng thể liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với epitop trên protein CD22, như CD22 của người và với epitop trên protein khác, như, ví dụ, protein CD3, như CD3 của người (tức là, có hóa trị hai và có hai paratop). Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đa đặc hiệu theo sáng chế này còn bao gồm các kháng thể liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với hai epitop không chồng lấn hoặc chồng lấn một phần trở lên trên protein CD22, như protein CD22 của người, và với epitop trên protein khác, như, ví dụ, protein CD3, như protein CD3 của người (tức là, có hóa trị ba và có hai paratop).

Các kháng thể theo sáng chế bao gồm các kháng thể đơn đặc hiệu, có một tính đặc hiệu liên kết. Cụ thể là, các kháng thể đơn đặc hiệu bao gồm các kháng thể bao gồm một tính đặc hiệu liên kết đơn lẻ, cũng như các kháng thể bao gồm nhiều hơn một đơn vị liên kết có cùng một tính đặc hiệu liên kết. Các thuật ngữ “kháng thể đơn đặc hiệu”, “kháng thể chỉ có chuỗi nặng đơn đặc hiệu”, “kháng thể chuỗi nặng đơn đặc hiệu”, và “UniAbTM đơn đặc hiệu” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa rộng nhất và bao quát tất cả các kháng thể có một tính đặc hiệu liên kết. Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đơn đặc hiệu theo sáng chế này bao gồm các kháng thể liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với một epitop trên protein CD22, như CD22 của người (có hóa trị một và đơn đặc hiệu). Cụ thể là, các kháng thể kháng CD22 chuỗi nặng đơn đặc hiệu theo sáng chế này còn bao gồm các kháng thể có nhiều hơn một đơn vị liên kết (ví dụ, kháng thể đa hóa trị) liên kết theo kiểu đặc hiệu miễn dịch với epitop trên protein CD22, như CD22 của người. Ví dụ, kháng thể đơn đặc hiệu theo các phương án của sáng chế có thể bao gồm

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm hai miền liên kết kháng nguyên, trong đó mỗi miền liên kết kháng nguyên liên kết với cùng một epitop trên protein CD22 (tức là, có hóa trị hai và đơn đặc hiệu).

“Epitop” là vị trí trên bề mặt của phân tử kháng nguyên mà một phân tử kháng thể đơn lẻ liên kết vào đó. Nhìn chung, kháng nguyên có một vài hay nhiều epitop khác nhau và phản ứng với nhiều kháng thể khác nhau. Cụ thể là, thuật ngữ này bao gồm các epitop tuyến tính và epitop theo hình thể.

“Lập bản đồ epitop” là quy trình nhận diện vị trí liên kết, hoặc epitop, của các kháng thể trên các kháng nguyên đích của chúng. Các epitop kháng thể có thể là các epitop tuyến tính hoặc epitop theo hình thể. Các epitop tuyến tính được tạo thành bằng một trình tự liên tục của axit amin ở protein. Epitop theo hình thể được tạo thành từ axit amin mà không liên tục ở trình tự protein, nhưng loại này được kết hợp cùng nhau sau khi gấp cuộn protein thành cấu trúc không gian ba chiều của nó.

“Tính đặc hiệu đa epitop” được dùng để chỉ khả năng liên kết đặc hiệu vào hai epitop khác nhau trở lên trên cùng một đích hoặc (các) đích khác nhau. Như được ghi chú trên đây, cụ thể là, sáng chế này bao gồm các kháng thể chuỗi nặng kháng CD22 có các tính đặc hiệu đa epitop, tức là các kháng thể chuỗi nặng kháng CD22 liên kết với một hoặc nhiều epitop không chồng lấn trên protein CD22, như CD22 của người; và các kháng thể chuỗi nặng kháng CD22 liên kết với một hoặc nhiều epitop trên protein CD22 và với epitop trên protein khác, như, ví dụ, protein CD3. Thuật ngữ “(các) epitop không chồng lấn” hoặc “(các) epitop không có tính cạnh tranh” của kháng nguyên được định nghĩa trong bản mô tả này có ý chỉ (các) epitop mà được nhận biết bằng một thành viên của cặp gồm các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên nhưng không phải là thành viên khác. Các cặp gồm các kháng thể, hoặc vùng liên kết kháng nguyên hướng đích cùng một kháng nguyên trên kháng thể đa đặc hiệu, nhận biết các epitop không chồng lấn, không cạnh tranh để liên kết với kháng nguyên đó và có khả năng liên kết với kháng nguyên đó một cách đồng thời.

Kháng thể liên kết “về cơ bản cùng một epitop” với kháng thể tham chiếu, khi hai kháng thể này nhận biết các epitop chồng lấn về không gian hoặc đồng nhất. Các phương pháp được sử dụng một cách rộng rãi nhất và nhanh chóng để xác định xem liệu hai epitop có liên kết vào các epitop chồng lấn về không gian hoặc đồng nhất hay không là các thử nghiệm cạnh tranh, thử nghiệm này có thể được sắp đặt về tất cả các số có dạng

thức khác nhau, bằng cách sử dụng kháng nguyên được đánh dấu hoặc kháng thể được đánh dấu. Thông thường, kháng nguyên được làm bất động trên đĩa 96 lỗ, và khả năng của các kháng thể không được đánh dấu trong việc phong bế quá trình liên kết các kháng thể được đánh dấu được đo bằng cách sử dụng chất đánh dấu phóng xạ hoặc chất đánh dấu enzym.

Thuật ngữ “hóa trị” như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ số vị trí liên kết được chỉ rõ trong phân tử kháng thể.

Kháng thể “có hóa trị một” có một vị trí liên kết. Vì vậy, kháng thể có hóa trị một cũng là đơn đặc hiệu.

Kháng thể “đa hóa trị” có hai vị trí liên kết trở lên. Vì vậy, các thuật ngữ “có hóa trị hai”, “có hóa trị ba”, và “có hóa trị bốn” lần lượt được dùng để chỉ sự có mặt của hai vị trí liên kết, ba vị trí liên kết và bốn vị trí liên kết. Vì vậy, kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế là ít nhất có hóa trị hai và có thể là có hóa trị ba, có hóa trị bốn, hoặc cách khác là đa hóa trị. Kháng thể có hóa trị hai theo các phương án của sáng chế có thể có hai vị trí liên kết với cùng một epitop (tức là, có hóa trị hai, có một paratop), hoặc với hai epitop khác nhau (tức là, có hóa trị hai, có hai paratop).

Một loạt rất nhiều phương pháp và kiểu sắp đặt protein là đã biết và được sử dụng cho việc điều chế các kháng thể đơn dòng đặc hiệu kép (bispecific monoclonal antibody-BsMAB), kháng thể tam đặc hiệu, và các kháng thể tương tự.

Thuật ngữ “thụ thể kháng nguyên thể khảm” hay “CAR” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa rộng nhất để chỉ thụ thể được xử lý bằng công nghệ, phần này ghép tính đặc hiệu liên kết mong muốn (ví dụ, vùng liên kết kháng nguyên của kháng thể đơn dòng hoặc phối tử khác) vào miền trải dài qua màng và miền truyền tín hiệu nội bào. Thông thường, thụ thể này được sử dụng để ghép tính đặc hiệu của kháng thể đơn dòng lên trên tế bào T để tạo ra thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR). (*J Natl Cancer Inst*, 2015; 108(7):dvj439; và Jackson và đồng tác giả, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2016; 13:370–383).

Thuật ngữ “kháng thể của người” được sử dụng trong bản mô tả này để bao gồm các kháng thể có vùng biến đổi và vùng hằng định được tạo ra từ các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người. Các kháng thể của người trong bản mô tả này có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người, ví dụ, các đột biến được đưa vào bằng quá trình gây đột biến ngẫu nhiên hoặc

đặc hiệu theo vị trí *in vitro* hoặc bằng đột biến tế bào cơ thể *in vivo*. Cụ thể là, thuật ngữ “kháng thể của người” bao gồm các kháng thể chỉ có chuỗi nặng có các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của người, được tạo ra bằng động vật chuyển gen, như chuột cống chuyển gen hoặc chuột nhắt chuyển gen, cụ thể là UniAbTM được tạo ra bằng UniRatTM, như được định nghĩa trên đây.

Thuật ngữ “kháng thể thể khảm” hoặc “globulin miễn dịch thể khảm” có nghĩa là phân tử globulin miễn dịch bao gồm các trình tự axit amin từ ít nhất hai ổ gen Ig khác nhau, ví dụ, kháng thể chuyển gen bao gồm phần được mã hóa bởi ổ gen Ig của người và phần được mã hóa bởi ổ gen Ig của chuột cống. Các kháng thể thể khảm bao gồm các kháng thể chuyển gen có các vùng Fc không phải của người hoặc các vùng Fc nhân tạo, và kiểu cùng cá thể của người. Các globulin miễn dịch như vậy có thể được phân lập từ động vật theo sáng chế mà đã được xử lý bằng công nghệ để tạo ra các kháng thể thể khảm như vậy.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “tế bào tác động” được dùng để chỉ tế bào miễn dịch mà liên can đến pha tác động của đáp ứng miễn dịch, đối ngược với pha nhận thức và pha hoạt hóa của đáp ứng miễn dịch. Một số tế bào tác động biểu hiện các thụ thể Fc đặc hiệu và thực hiện chức năng miễn dịch đặc hiệu. Theo một số phương án, tế bào tác động như tế bào tiêu diệt tự nhiên có khả năng kích thích tính gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc vào kháng thể (antibody dependent cellular cytotoxicity-ADCC). Ví dụ, bạch cầu đơn nhân to và đại thực bào, thành phần này biểu hiện FcR, liên can đến quá trình tiêu diệt đặc hiệu các tế bào đích và trình diện kháng nguyên với các hợp phần khác của hệ miễn dịch, hoặc liên kết với các tế bào mà trình diện kháng nguyên. Theo một số phương án, tế bào tác động có thể thực bào kháng nguyên đích hoặc tế bào đích.

“Các tế bào tác động của người” là bạch cầu biểu hiện các thụ thể như thụ thể tế bào T hoặc FcR và thực hiện chức năng tác động. Tốt hơn, nếu các tế bào biểu hiện ít nhất FcγRIII và thực hiện chức năng tác động ADCC. Các ví dụ về bạch cầu của người mà làm trung gian cho ADCC bao gồm các tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer-NK), bạch cầu đơn nhân to, các tế bào T gây độc tế bào và bạch cầu trung tính; mà các tế bào NK là được ưu tiên. Các tế bào tác động có thể được phân lập từ nguồn nguyên thể của chúng, ví dụ, từ máu hoặc PBMC như được mô tả trong bản mô tả này.

Thuật ngữ “tế bào miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa rộng nhất, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, các tế bào có nguồn gốc dạng tủy xương hoặc

dạng bạch huyết, ví dụ, bạch huyết bào (như tế bào B và tế bào T bao gồm cả các tế bào T phân giải tế bào (CTL)), tế bào tiêu diệt, tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer-NK), đại thực bào, bạch cầu đơn nhân to, bạch cầu ưa eosin, các tế bào dạng nhân đa hình, như bạch cầu trung tính, bạch cầu hạt, dưỡng bào và bạch cầu ưa bazơ.

“Chức năng tác động” kháng thể được dùng để chỉ các hoạt tính sinh học có thể quy được cho vùng Fc (vùng Fc trình tự nguyên thể hoặc vùng Fc trình tự axit amin biến thể) của kháng thể. Các ví dụ về chức năng tác động của kháng thể bao gồm khả năng liên kết C1q; tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể (complement dependent cytotoxicity-CDC); khả năng liên kết thụ thể Fc; tính gây độc tế bào do tế bào làm trung gian phụ thuộc vào kháng thể (antibody dependent cell mediated cytotoxicity-ADCC); quá trình thực bào; quá trình điều hòa giảm của các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B; BCR), v.v.

“Tính gây độc tế bào do tế bào làm trung gian phụ thuộc vào kháng thể” và “ADCC” được dùng để chỉ phản ứng do tế bào làm trung gian mà trong đó các tế bào gây độc tế bào không đặc hiệu mà biểu hiện các thụ thể Fc (FcR) (ví dụ, các tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer-NK), bạch cầu trung tính, và đại thực bào) nhận biết kháng thể được liên kết trên tế bào đích và kế tiếp, gây ra hiện tượng phân giải tế bào đích. Các tế bào sơ cấp dùng để làm trung gian cho ADCC, tế bào NK, chỉ biểu hiện FcγRIII, trong khi đó bạch cầu đơn nhân to biểu hiện FcγRI, FcγRII và FcγRIII. Quá trình biểu hiện FcR trên các tế bào tạo huyết được tổng kết trong Bảng 3 ở trang 464 của tài liệu: Ravetch và Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm, có thể thực hiện thử nghiệm ADCC *in vitro*, như thử nghiệm được mô tả trong tài liệu: Bằng sáng chế Mỹ số 5,500,362 hoặc 5,821,337. Các tế bào tác động hữu ích dùng cho các thử nghiệm như vậy bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell-PBMC) và các tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer-NK). Ngoài ra hoặc theo cách khác, hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, ở mô hình động vật như mô hình được bộc lộ trong tài liệu: Clynes và đồng tác giả, *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998).

“Tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể” hay “CDC” được dùng để chỉ khả năng của phân tử trong việc phân giải đích khi có mặt bổ thể. Con đường hoạt hóa bổ thể được khởi đầu bằng quá trình liên kết hợp phần thứ nhất của hệ thống bổ thể (C1q) với phân tử (ví dụ, kháng thể) được tạo phức hợp với kháng nguyên cùng gốc. Để đánh giá

quá trình hoạt hóa bổ thể, có thể thực hiện thử nghiệm CDC, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu: Gazzano-Santoro và đồng tác giả, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996).

“Ái lực liên kết” được dùng để chỉ độ mạnh của tổng số của các tương tác không cộng hóa trị giữa một vị trí liên kết đơn lẻ của phân tử (ví dụ, kháng thể) và đối tác liên kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). Trừ khi được biểu lộ khác, như được sử dụng trong bản mô tả này, “ái lực liên kết” được dùng để chỉ ái lực liên kết nội tại mà phản ánh sự tương tác 1:1 giữa các thành viên của cặp liên kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên). Ái lực của phân tử X đối với đối tác Y của nó thường có thể được biểu diễn bằng hằng số phân ly (K_d). Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kháng thể ái lực thấp thường liên kết kháng nguyên một cách chậm rãi và có xu hướng phân ly một cách dễ dàng, trong khi đó các kháng thể ái lực cao thường liên kết kháng nguyên nhanh hơn và có xu hướng vẫn còn được liên kết.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “ K_d ” hoặc “trị số K_d ” được dùng để chỉ hằng số phân ly được xác định bằng phương pháp đo giao thoa lớp sinh học, bằng cách sử dụng công cụ Octet QK384 (Fortebio Inc., Menlo Park, CA) theo chế độ động học. Ví dụ, thiết bị cảm biến có kháng thể kháng phần Fc của chuột nhắt được nạp bằng kháng nguyên được dung hợp với Fc của chuột nhắt và sau đó, được nhúng vào các lỗ chứa kháng thể để đo tốc độ kết hợp phụ thuộc vào nồng độ (kon). Tốc độ phân ly kháng thể (koff) được đo ở bước cuối cùng, trong đó thiết bị cảm biến được nhúng vào các lỗ chỉ chứa dung dịch đệm mà thôi. K_d là tỷ số của koff/kon. (Để biết thêm chi tiết, xem tài liệu: Concepcion, J, và đồng tác giả, *Comb Chem High Throughput Screen*, 12(8), 791-800, 2009).

Các thuật ngữ “sự điều trị”, “việc điều trị” và các thuật ngữ tương tự được sử dụng trong bản mô tả này thường có ý chỉ việc thu được tác dụng dược lý học và/hoặc tác dụng sinh lý học mong muốn. Tác dụng này có thể là phòng bệnh về phương diện phòng ngừa một phần hoặc hoàn toàn bệnh hoặc triệu chứng của nó và/hoặc có thể là trị liệu về phương diện chữa lành một phần hoặc hoàn toàn đối với bệnh và/hoặc tác dụng có hại có thể quy được cho bệnh. “Sự điều trị” như được sử dụng trong bản mô tả này bao quát sự điều trị bất kỳ bệnh ở động vật có vú, và bao gồm: (a) phòng ngừa bệnh khỏi xảy ra ở đối tượng mà có thể dễ mắc bệnh nhưng chưa được chẩn đoán là có bệnh; (b) ức chế bệnh, tức là, kìm hãm sự phát triển của nó; hoặc (c) giảm nhẹ bệnh, tức là, gây ra sự thoái triển của bệnh. Chất trị liệu có thể được cho dùng trước khi, trong khi hoặc sau khi khởi phát

bệnh hoặc tổn thương. Sự điều trị bệnh đang diễn ra, trong đó sự điều trị này làm ổn định hoặc làm giảm các triệu chứng lâm sàng không mong muốn của đối tượng bệnh, là đang được quan tâm đặc biệt. Sự điều trị như vậy được thực hiện một cách thích hợp trước khi mất hoàn toàn chức năng ở các mô bị ảnh hưởng. Liệu pháp đối tượng có thể được cho dùng trong suốt giai đoạn có triệu chứng của bệnh, và trong một số trường hợp, sau giai đoạn có triệu chứng của bệnh.

“Lượng hữu hiệu về mặt trị liệu” được dự định cho lượng của chất có hoạt tính mà cần thiết để đem đến lợi ích trị liệu cho đối tượng. Ví dụ, “lượng hữu hiệu về mặt trị liệu” là lượng mà kích thích, làm thuyên giảm hoặc cách khác là gây ra sự cải thiện về các triệu chứng bệnh lý, sự tiến triển của bệnh hoặc tình trạng sinh lý gắn liền với bệnh hoặc lượng mà cải thiện sức đề kháng với rối loạn.

Các thuật ngữ “u tân sinh tế bào B” hoặc “u tân sinh tế bào B trưởng thành” trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm u bạch huyết bạch huyết bào nhỏ, u bạch huyết tiền bạch huyết bào tế bào B, Ung thư máu mãn tính bạch huyết bào tế bào B, u bạch huyết tế bào áo nang, u bạch huyết Burkitt, u bạch huyết thể nang, u bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), đa u tủy, u bạch huyết bạch huyết bào-tương bào, u bạch huyết vùng rìa ở lách, u tân sinh tương bào, như u tủy tương bào, u tương bào, bệnh lắng đọng globulin miễn dịch đơn dòng, bệnh chuỗi nặng, u bạch huyết MALT, u bạch huyết tế bào B lớn vùng rìa ở hạch bạch huyết, u bạch huyết tế bào B lớn nội mạch, u bạch huyết tràn dịch nguyên phát, u hạt dạng u bạch huyết, u bạch huyết không phải thể Hodgkin, u bạch huyết thể Hodgkin, ung thư máu tế bào lông, u bạch huyết tràn dịch nguyên phát và u bạch huyết không phải thể Hodgkin liên quan đến bệnh AIDS.

Thuật ngữ “được đặc trưng bởi quá trình biểu hiện CD22” được dùng theo nghĩa rộng để chỉ bệnh hoặc rối loạn bất kỳ mà trong đó quá trình biểu hiện CD22 là gắn liền với hoặc liên can đến một hoặc nhiều quá trình bệnh lý mà đặc trưng bởi bệnh hoặc rối loạn này. Các rối loạn như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, u tân sinh tế bào B.

Các thuật ngữ “đối tượng”, “cá thể”, và “đối tượng bệnh” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này để chỉ động vật có vú đang được đánh giá để điều trị và/hoặc đang được điều trị. Theo một phương án, động vật có vú là người. Các thuật ngữ “đối tượng”, “cá thể”, và “đối tượng bệnh” bao quát, mà không chỉ giới hạn ở, cá thể có ung thư, cá thể có các bệnh tự miễn dịch, có lây nhiễm mầm bệnh, và các tình trạng tương tự. Đối tượng có thể là người, nhưng còn bao gồm các động vật có vú khác, cụ thể

là các động vật có vú hữu ích làm mô hình phòng thí nghiệm cho bệnh của người, ví dụ, chuột nhắt, chuột cống, v.v.

Thuật ngữ “dạng chế phẩm dược” được dùng để chỉ chế phẩm mà ở dạng sao cho cho phép hoạt tính sinh học của thành phần có hoạt tính được hữu hiệu, và dạng này không chứa các hợp phần phụ thêm mà độc hại đến mức không thể chấp nhận được đối với đối tượng mà sẽ được cho dùng dạng chế phẩm này. Các dạng chế phẩm như vậy là vô trùng. Các tá dược “dược dụng” (chất dẫn, chất phụ gia) là loại mà có thể cho động vật có vú đối tượng dùng một cách hợp lý để đem lại liều lượng hữu hiệu của thành phần có hoạt tính được sử dụng.

Dạng chế phẩm “vô trùng” là vô khuẩn hoặc không có hoặc về cơ bản không có tất cả các vi sinh vật sống và bào tử của chúng. Dạng chế phẩm “đông lạnh” là dạng ở nhiệt độ dưới 0°C.

Dạng chế phẩm “ổn định” là dạng chế phẩm mà trong đó protein trong đó về cơ bản giữ lại tính ổn định vật lý và/hoặc tính ổn định hóa học và/hoặc hoạt tính sinh học của nó sau khi lưu trữ. Tốt hơn, nếu dạng chế phẩm này về cơ bản giữ lại tính ổn định vật lý và tính ổn định hóa học của nó, cũng như hoạt tính sinh học của nó sau khi lưu trữ. Khoảng thời gian lưu trữ thường được chọn lựa dựa trên thời hạn sử dụng được dự định của dạng chế phẩm. Ví dụ, các kỹ thuật phân tích khác nhau dùng để đo tính ổn định protein là sẵn có trong lĩnh vực kỹ thuật này và được rà soát trong tài liệu: Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301. Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) và Jones. A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90) (1993). Tính ổn định có thể được đo ở nhiệt độ được chọn lựa trong khoảng thời gian được chọn lựa. Tính ổn định có thể được đánh giá về định tính và/hoặc về định lượng theo một loạt cách thức khác nhau, bao gồm cả sự đánh giá về hiện tượng hình thành chất kết tụ (ví dụ, bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ theo kích cỡ, bằng cách đo độ đục, và/hoặc bằng phương pháp kiểm tra bằng mắt thường); bằng cách đánh giá tính không thuần nhất điện tích bằng cách sử dụng sắc ký trao đổi cation, điện di hội tụ đẳng điện mao quản có hình ảnh (icIEF) hoặc điện di vùng mao quản; phép phân tích trình tự đầu tận cùng carboxy hoặc đầu tận cùng amin; phép phân tích đo phổ khối; phép phân tích SDS-PAGE để so sánh kháng thể được làm giảm và kháng thể nguyên vẹn; phép phân tích bản đồ peptit (ví dụ, trypsin hoặc LYS-C); đánh giá hoạt tính sinh học hoặc chức năng liên kết kháng nguyên của kháng thể; v.v. Tính không ổn định có thể bao gồm một hoặc nhiều đặc điểm bất kỳ trong số:

quá trình kết tụ, quá trình khử amit (ví dụ, quá trình khử amit Asn), sự oxy hóa (ví dụ, sự oxy hóa Met), quá trình đồng phân hóa (ví dụ, quá trình đồng phân hóa Asp), cắt/thủy phân/phân mảnh (ví dụ, phân mảnh vùng bản lề), quá trình tạo thành suxinimit, (các) xystein không ghép cặp, kéo dài đầu tận cùng N, chế biến đầu tận cùng C, những khác biệt về quá trình glycosyl hóa, v.v.

II. Mô tả chi tiết sáng chế

Các kháng thể kháng CD22

Các khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất liên kết đa đặc hiệu có chứa miền liên kết kháng CD22. Sáng chế đề xuất họ của các miền liên kết kháng thể chỉ có chuỗi nặng có liên hệ gần gũi mà liên kết với CD22 của người. Các kháng thể của họ này bao gồm tập hợp gồm các trình tự CDR như được định nghĩa trong bản mô tả này và được thể hiện trong Bảng 1, và được lấy làm ví dụ bằng các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) được đề xuất của các SEQ ID NO: 24 đến 84 được nêu ra trong Bảng 2. Các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này đem lại một số lợi ích mà góp phần vào tính hữu dụng trong vai trò là (các) chất trị liệu về mặt lâm sàng. Các kháng thể bao gồm các thành viên có khoảng ái lực liên kết, cho phép chọn lựa một trình tự cụ thể có ái lực liên kết mong muốn.

Bảng 1: Các trình tự axit amin CDR đặc thù của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22.

SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYTGST (SEQ ID NO: 14)	AREDSSSWRS (SEQ ID NO: 21)
GGSFSGYY (SEQ ID NO: 5)	VYYTGAT (SEQ ID NO: 15)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)

GDSISSSSYY (SEQ ID NO: 6)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)
GGSITSSSYY (SEQ ID NO: 7)	IYYSGSA (SEQ ID NO: 17)	
GGSISSSSHY (SEQ ID NO: 8)		
GGSISSSYY (SEQ ID NO: 9)		
GGSINDNSHY (SEQ ID NO: 10)		

Bảng 2. Các trình tự axit amin miền biến đổi của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22.

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335207	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKSRTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTV SS	24
335161	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGTLVTV SS	25
335254	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	26

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335260	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	27
335151	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLNLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	28
335170	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	29
335176	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	30
335181	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGGYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	31
335244	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	32

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335154	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	33
335201	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	34
335261	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVS S	35
335293	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVS S	36
335203	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	37
335185	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	38

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335206	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTV SS	39
335245	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	40
335218	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSRGQGTLVTV SS	41
335160	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGTLVTV SS	42
335158	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGTLVTV SS	43
324508	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLENRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSRGQGTLVTV SS	44
335307	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	45

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335301	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	46
335323	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGGYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	47
335271	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RHPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVS S	48
335234	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	49
335182	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGNIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	50
335186	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWI QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	51
335233	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	52

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335224	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYTGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	53
335210	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGDYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	54
335311	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQ FSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVSS	55
335159	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAAYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVS S	56
335188	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWI RQPPGKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVS S	57
335274	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVSS	58
335226	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSSSYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	59
335333	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCAREDSSSWRSGQGTLVTVSS	60

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335283	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	61
335297	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQ FSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	62
335273	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	63
335187	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	64
335295	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSRGQGTLVTVSS	65
335220	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	66
335173	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	67
335219	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	68

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335236	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	69
335266	QLQLQESGPGLVRPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVSS	70
335208	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	71
335195	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAMYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	72
335285	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVSS	73
335150	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIR RQSPEKGLEWIGHIYYSGVTYYNPSLKNRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCKRDDSSNWRSGQGTLVTV SS	74
335316	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVSS	75
335189	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIR QPPGKGLEWIGSVYYTGATYYNPSLKNRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVS S	76

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
335179	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWFR HPPGKGLDWIGSIHYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	77
335230	QLQLQESDPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSHYWGWIR QPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQ FSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	78
335166	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKNRVTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	79
335242	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR QPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQ FSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTVSS	80
335162	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGSAYYHPSLKSRTISIDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARDSSNWRSGQGTLVTVSS	81
335171	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR QPPGKGLEWIGSIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRNQF SLNLSSVTAADTAVYYCTRDDSSNWRSGQGTLVTVSS	82
335232	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSGDYYWGWIR RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QSSNLSSVTAADTAVYYCTREDSSNWRSGQGTLVTV SS	83
335263	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSINDNSHYWGWIR RQPPGKGLEWIGHIYYSGATYYNPSLKNRVTISVDTSRN QFSLNLSSVTAADTAVYYCTREDSSSWRSGQGTLVTVS S	84

Kháng thể thích hợp có thể được chọn lựa từ loại được đề xuất trong bản mô tả này dùng cho việc phát triển và cách sử dụng trị liệu hoặc cách sử dụng khác, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, cách sử dụng làm kháng thể đặc hiệu kép, ví dụ, như được thể hiện trên FIG. 14A, hoặc kháng thể tam đặc hiệu, hoặc một phần của cấu trúc CAR-T (ví dụ, như được thể hiện trên FIG. 14B). FIG. 14A là hình minh họa ví dụ không giới hạn về các kháng thể đa đặc hiệu kháng CD22 x kháng CD3, trong đó miền kháng CD22 là có hóa trị một và đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, miền kháng CD3 chứa miền CH1 và ghép cặp với chuỗi nhẹ, trong khi (các) miền kháng CD22 được tạo ra từ các kháng thể chỉ có chuỗi nặng và không chứa miền CH1 hoặc tương tác với chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, hai chuỗi nặng này được ghép cặp bằng cách sử dụng, ví dụ, công nghệ chốt-vào-lỗ.

Chuyển sang các kháng thể được trình bày trên Fig. 15, Fig. 15A mô tả kháng thể đặc hiệu kép kháng CD22 x kháng CD3 trong đó nhánh liên kết kháng CD22 là có hóa trị một và đơn đặc hiệu, và miền liên kết kháng nguyên của nhánh kháng CD22 là theo kiểu sắp đặt đơn lẻ, có nghĩa là chỉ một miền liên kết kháng nguyên có mặt. Fig. 15B mô tả kháng thể đặc hiệu kép kháng CD22 x kháng CD3 trong đó nhánh liên kết kháng CD22 là có hóa trị hai và đơn đặc hiệu, và miền liên kết kháng nguyên của nhánh kháng CD22 là theo kiểu sắp đặt nối tiếp, có nghĩa là có hai miền liên kết kháng nguyên đồng nhất được đặt theo kiểu nối tiếp. Fig. 15C mô tả kháng thể đặc hiệu kép kháng CD22 x kháng CD3 trong đó nhánh liên kết kháng CD22 là có hóa trị hai và có hai paratop, và các miền liên kết kháng nguyên của nhánh kháng CD22 là theo kiểu sắp đặt nối tiếp.

Việc xác định ái lực của protein ứng viên có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như phương pháp đo Biacore. Các thành viên của họ kháng thể có thể có ái lực đối với CD22 với Kd từ khoảng 10^{-6} đến khoảng 10^{-11} , bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở: từ khoảng 10^{-6} đến khoảng 10^{-10} ; từ khoảng 10^{-6} đến khoảng 10^{-9} ; từ khoảng 10^{-6} đến khoảng 10^{-8} ; từ khoảng 10^{-8} đến khoảng 10^{-11} ; từ khoảng 10^{-8} đến khoảng 10^{-10} ; từ khoảng 10^{-8} đến khoảng 10^{-9} ; từ khoảng 10^{-9} đến khoảng 10^{-11} ; từ khoảng 10^{-9} đến khoảng 10^{-10} ; hoặc trị số bất kỳ trong phạm vi các khoảng này. Quá trình chọn lựa ái lực có thể được xác nhận bằng phương pháp đánh giá sinh học dùng để điều biến, ví dụ, phong bế, hoạt tính sinh học của CD22, bao gồm cả thử nghiệm *in vitro*, mô hình tiền lâm sàng, và các thử nghiệm lâm sàng, cũng như sự đánh giá về độc tính tiềm tàng.

Các thành viên của họ kháng thể trong bản mô tả này không có tính phản ứng chéo với protein CD22 của *Khỉ đuôi dài*, nhưng có thể được xử lý bằng công nghệ để đem lại tính phản ứng chéo với protein CD22 của *Khỉ đuôi dài*, hoặc với CD22 của loài động vật bất kỳ khác, nếu mong muốn.

Họ gồm các kháng thể đặc hiệu với CD22 trong bản mô tả này bao gồm miền VH, bao gồm các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 trong khung VH của người. Các trình tự CDR có thể nằm ở, lấy ví dụ, trong vùng là khoảng các gốc axit amin 26-35; 53-59; và 98-117 lần lượt đối với CDR1, CDR2 và CDR3, của các trình tự vùng biến đổi làm ví dụ được đề xuất được nêu ra ở các SEQ ID NO: 24 đến 84. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng các trình tự CDR có thể ở các vị trí khác nhau nếu trình tự khung khác được chọn lựa, mặc dù nhìn chung trật tự của các trình tự sẽ vẫn còn y nguyên.

Các trình tự CDR1, CDR2, và CDR3 của các kháng thể kháng CD22 theo sáng chế này có thể được bao quát bởi các công thức cấu trúc dưới đây, trong đó X biểu lộ axit amin biến đổi, đây có thể là các axit amin cụ thể như được biểu lộ dưới đây.

CDR1

G X₁ S I X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ Y (SEQ ID NO: 104)

Trong đó X₁ là D hoặc G;
 X₂ là S, T, I hoặc N;
 X₃ là S hoặc D;
 X₄ là G, S hoặc N;
 X₅ là D, G hoặc S; và
 X₆ là Y hoặc H.

CDR2

X₇ X₈ Y X₉ G X₁₀ X₁₁ (SEQ ID NO: 105)

trong đó X₇ là I hoặc V;
 X₈ là Y hoặc H;
 X₉ là S hoặc T;
 X₁₀ là A, V hoặc S; và
 X₁₁ là T hoặc A.

CDR3

X_{12} R X_{13} D S S X_{14} W R S (SEQ ID NO: 106)

trong đó X_{12} là T, A hoặc K;

X_{13} là D hoặc E; và

X_{14} là N hoặc S.

Các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 tiêu biểu được thể hiện trong các Bảng 1 và 3.

Bảng 3: Các trình tự axit amin CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể chuỗi nặng kháng CD22.

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335207	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335161	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335254	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335260	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335151	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335170	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335176	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335181	GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335244	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335154	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335201	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335261	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335293	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335203	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335185	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335206	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335245	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335218	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335160	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335158	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
324508	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335307	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335301	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335323	GDSISSGGYY (SEQ ID NO: 2)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335271	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335234	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335182	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335186	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335233	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335224	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYTGST (SEQ ID NO: 14)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335210	GGSISSGDYY (SEQ ID NO: 3)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335311	GGSFSGYY (SEQ ID NO: 5)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335159	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335188	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335274	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335226	GDSISSSSYY (SEQ ID NO: 6)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335333	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	AREDSSSWRS (SEQ ID NO: 21)
335283	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335297	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335273	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335187	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335295	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335220	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335173	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 7)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335219	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335236	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335266	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335208	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335195	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335285	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335150	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGVT (SEQ ID NO: 11)	KRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 22)
335316	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)
335189	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	VYYTGAT (SEQ ID NO: 15)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335179	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IHYSGST (SEQ ID NO: 16)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335230	GGSISSSSHY (SEQ ID NO: 8)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335166	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGST (SEQ ID NO: 13)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335242	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)
335162	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 9)	IYYSGSA (SEQ ID NO: 17)	ARDDSSNWRS (SEQ ID NO: 23)
335171	GGSISSSSYY (SEQ ID NO: 4)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TRDDSSNWRS (SEQ ID NO: 19)
335232	GDSISSGDYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSNWRS (SEQ ID NO: 18)

Dòng có số hiệu nhận diện	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aaCDR3
335263	GGSINDNSHY (SEQ ID NO: 10)	IYYSGAT (SEQ ID NO: 12)	TREDSSSWRS (SEQ ID NO: 20)

Theo một số phương án, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự CDR1 có một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1-10. Theo một phương án cụ thể, trình tự CDR1 là SEQ ID NO: 1.

Theo một số phương án, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự CDR2 có một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 11-17. Theo một phương án cụ thể, trình tự CDR2 là SEQ ID NO: 11.

Theo một số phương án, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự CDR3 có một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 18-23. Theo một phương án cụ thể, trình tự CDR2 là SEQ ID NO: 18.

Theo một phương án nữa, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự CDR1 là SEQ ID NO: 1; trình tự CDR2 là SEQ ID NO: 11; và trình tự CDR3 là SEQ ID NO: 18.

Theo các phương án nữa, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng của các SEQ ID NO: 24 đến 84 (Bảng 2).

Theo các phương án còn khác nữa, kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng là SEQ ID NO: 24.

Theo một số phương án, trình tự CDR trong kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 theo sáng chế bao gồm một hoặc hai đột biến thế axit amin so với trình tự CDR1, CDR2 và/hoặc CDR3 hoặc tập hợp gồm các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 ở một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1 đến 23 (FIG. 1). Theo một số phương án, (các) đột biến thế axit amin này là một hoặc hai trong số các vị trí axit amin 4-6 của CDR1, và/hoặc một hoặc hai trong số các vị trí axit amin 2, 4-7 của CDR2, và/hoặc một hoặc hai trong số các vị trí axit amin 5 và 12 của CDR3, so với các công thức được đề cập ở trên.

Theo một số phương án, các kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 ở đây có thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất ít nhất khoảng 85%, độ đồng nhất ít nhất 90%, độ đồng nhất ít nhất 95%, độ đồng nhất ít nhất 98%, hoặc độ đồng nhất ít nhất 99% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của các SEQ ID NO: 24 đến 84 (như được thể hiện trong Bảng 2).

Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu được đề xuất, kháng thể này có thể có kiểu sắp đặt bất kỳ trong số các kiểu sắp đặt được bàn luận trong bản mô tả này, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, phân tử giống kháng thể ba chuỗi đặc hiệu kép. Theo một số phương án, kháng thể đa đặc hiệu có thể bao gồm ít nhất một vùng biến đổi chuỗi nặng có tính đặc hiệu liên kết đối với CD22. Theo một số phương án, kháng thể đa đặc hiệu có thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm ít nhất hai miền liên kết kháng nguyên, trong đó mỗi miền trong số các miền liên kết kháng nguyên có tính đặc hiệu liên kết đối với CD22. Theo một số phương án, kháng thể đa đặc hiệu có thể bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ mà có tính đặc hiệu liên kết đối với kháng nguyên thứ nhất (ví dụ, CD3), và chuỗi nặng từ kháng thể chỉ có chuỗi nặng. Theo các phương án nhất định, chuỗi nặng từ kháng thể chỉ có chuỗi nặng bao gồm phần Fc bao gồm các miền CH2 và/hoặc CH3 và/hoặc CH4, khi thiếu vắng miền CH1. Theo một phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ mà có tính đặc hiệu liên kết đối với kháng nguyên trên tế bào tác động (ví dụ, protein CD3 trên tế bào T), và chuỗi nặng từ kháng thể chỉ có chuỗi nặng bao gồm miền liên kết kháng nguyên mà có tính đặc hiệu liên kết đối với CD22.

Theo một số phương án, kháng thể đa đặc hiệu bao gồm miền VH liên kết CD3 mà được ghép cặp với miền biến đổi chuỗi nhẹ. Theo các phương án nhất định, chuỗi nhẹ này là chuỗi nhẹ cố định. Theo một số phương án, miền VH liên kết CD3 bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87, trong khung VH của người. Theo một số phương án, chuỗi nhẹ cố định bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90, ở khung VL của người. Kết hợp cùng nhau, miền VH liên kết CD3 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có ái lực liên kết đối với CD3. Theo một số phương án, miền VH liên kết CD3 bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 91. Theo một số phương án, miền VH liên kết CD3 bao gồm trình tự có độ đồng nhất tính theo phần trăm ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất

khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99% với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 91. Theo một số phương án, chuỗi nhẹ cố định bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 92. Theo một số phương án, chuỗi nhẹ cố định bao gồm trình tự có độ đồng nhất tính theo phần trăm ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99% với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 92.

Các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm miền VH liên kết CD3 và miền biến đổi chuỗi nhẹ được mô tả trên đây có các thuộc tính có lợi, ví dụ, như được mô tả trong công bố đơn PCT được công bố số WO2018/052503, phần bộc lộ của tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể đa đặc hiệu và các miền liên kết kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này, có ái lực liên kết với CD22, có thể được kết hợp với các miền liên kết CD3 và các miền chuỗi nhẹ cố định được mô tả trong bản mô tả này, để tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu có ái lực liên kết với một hoặc nhiều epitop CD22, cũng như CD3.

Bảng 4. Các trình tự axit amin CDR1, CDR2, CDR3 của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể kháng CD3.

	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
Chuỗi nặng	GFTFHNYA (SEQ ID NO: 85)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 86)	AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 87)
Chuỗi nhẹ	QSVSSN (SEQ ID NO: 88)	GAS (SEQ ID NO: 89)	QQYNNWPWT (SEQ ID NO: 90)

Bảng 5. Các trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3.

VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQAPGKGLE WVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 91)
----	---

VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YG ASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAVYYCQQYNNWPWTF GQ GTKVEIK (SEQ ID NO: 92)
----	--

Bảng 6: Các trình tự vùng Fc của IgG1 và IgG4 của người.

IgG1 của người (Số hiệu UniProt: P01857)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHY T QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 93)
IgG4 của người (Số hiệu UniProt: P01861)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY K CKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSFSVMHEALHNHYTQK S LSLSLGK (SEQ ID NO: 94)
IgG1 của người có các	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI

đột biến làm bất hoạt (vùng Fc)	CNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 95)
IgG4 của người có các đột biến làm bất hoạt (vùng Fc)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK (SEQ ID NO: 96)

Bảng 7: các trình tự phụ thêm.

Trình tự vùng hằng định chuỗi nhẹ của kháng thể kháng CD3 (chuỗi nhẹ kappa)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQK PQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDF AVYYCQQYNNWPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 97)
---	--

Trình tự chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3 (có Fc của IgG1 loại hoang dã)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 98)
Trình tự vùng hằng định chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3 (có Fc của IgG1 được bất hoạt)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 99)

Trình tự vùng hằng định chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3 (có Fc của IgG4 loại hoang dã)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 100)
Trình tự vùng hằng định chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3 (có Fc của IgG4 được bất hoạt)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 101)

Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu được đề xuất, kháng thể này có thể có kiểu sắp đặt bất kỳ trong số các kiểu sắp đặt được bàn luận trong bản mô tả này, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, phân tử giống kháng thể ba chuỗi đặc hiệu kép. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có thể bao gồm ít nhất một vùng biến đổi chuỗi nặng có tính đặc hiệu liên kết đối với CD22, và ít nhất một vùng biến

đôi chuỗi nặng có tính đặc hiệu liên kết đối với protein không phải là CD22. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có thể bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ mà có tính đặc hiệu liên kết đối với kháng nguyên thứ nhất, và chuỗi nặng từ kháng thể chỉ có chuỗi nặng, bao gồm phần Fc bao gồm các miền CH2 và/hoặc CH3 và/hoặc CH4, khi thiếu vắng miền CH1, và miền liên kết kháng nguyên mà liên kết epitop của kháng nguyên thứ hai hoặc epitop khác của kháng nguyên thứ nhất. Theo một phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ mà có tính đặc hiệu liên kết đối với kháng nguyên trên tế bào tác động (ví dụ, protein CD3 trên tế bào T), và chuỗi nặng từ kháng thể chỉ có chuỗi nặng bao gồm miền liên kết kháng nguyên mà có tính đặc hiệu liên kết đối với CD22.

Theo một số phương án, trong đó hợp chất liên kết theo sáng chế là kháng thể đặc hiệu kép, một nhánh của kháng thể (một gốc liên kết, hoặc một đơn vị liên kết) là đặc hiệu đối với CD22 của người, trong khi nhánh kia có thể là đặc hiệu đối với các tế bào đích, kháng nguyên gắn liền với khối u, kháng nguyên hướng đích, ví dụ, integrin, v.v., kháng nguyên mầm bệnh, protein điểm kiểm soát, và các loại tương tự. Cụ thể là, các tế bào đích bao gồm các tế bào ung thư, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, các tế bào từ khối u huyết học, ví dụ, các khối u tế bào B, như được bàn luận dưới đây. Theo một số phương án, một nhánh của kháng thể (một gốc liên kết, hoặc một đơn vị liên kết) là đặc hiệu đối với CD22 của người, trong khi nhánh kia là đặc hiệu đối với CD3.

Theo một số phương án, hợp chất liên kết bao gồm polypeptit chuỗi nhẹ kháng CD3 bao gồm trình tự của SEQ ID NO: 92 được liên kết với trình tự của SEQ ID NO: 97, polypeptit chuỗi nặng kháng CD3 bao gồm trình tự của một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 98, 99, 100 hoặc 101, và polypeptit chuỗi nặng kháng CD22 bao gồm trình tự của một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 24-84 được liên kết với trình tự của một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 93, 94, 95 hoặc 96. Các trình tự này có thể được kết hợp theo các cách khác nhau để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép của phân nhóm IgG mong muốn, ví dụ, IgG1, IgG4, IgG1 đã được bất hoạt, IgG4 đã được bất hoạt.

Các dạng thức khác nhau của các kháng thể đặc hiệu kép là trong phạm vi của sáng chế, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, polypeptit chuỗi đơn, polypeptit hai chuỗi, polypeptit ba chuỗi, polypeptit bốn chuỗi, và nhiều loại khác của chúng. Cụ thể là, các kháng thể đa đặc hiệu trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể đa đặc hiệu tế bào T (ví dụ, đặc hiệu kép) liên kết với CD22 (các kháng thể kháng CD22x kháng CD3), mà

được biểu hiện chọn lọc trên các tế bào B trưởng thành, và CD3. Các kháng thể như vậy kích thích quá trình tiêu diệt tế bào biểu hiện CD22 do tế bào T công hiệu làm trung gian.

Điều chế các kháng thể

Có thể điều chế các hợp chất liên kết đa đặc hiệu theo sáng chế này bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một phương án được ưu tiên, các kháng thể chuỗi nặng trong bản mô tả này được tạo ra bằng động vật chuyển gen, bao gồm cả chuột nhắt và chuột cống chuyển gen, tốt hơn, nếu là chuột cống, mà trong đó gen globulin miễn dịch nội sinh được làm khuyết thiếu hoặc vô hiệu hóa. Theo một phương án được ưu tiên, các kháng thể chuỗi nặng trong bản mô tả này được tạo ra ở UniRat™. UniRat™ có gen globulin miễn dịch nội sinh được bất hoạt và sử dụng ổ gen chuyển chuỗi nặng globulin miễn dịch của người để biểu hiện kho đa dạng, được tối ưu hóa một cách tự nhiên của HCAb hoàn toàn của người. Trong khi ổ gen globulin miễn dịch nội sinh ở chuột cống có thể được làm khuyết thiếu hoặc bất hoạt bằng cách sử dụng một loạt công nghệ, thì ở UniRat™, công nghệ ngón tay-kẽm (endo)nucleaza (ZNF) được sử dụng để làm bất hoạt ổ gen J chuỗi nặng, ổ gen C κ chuỗi nhẹ và ổ gen C λ chuỗi nhẹ nội sinh của chuột cống. Cấu trúc ZNF dùng cho phương pháp vi tiêm vào noãn bào có thể tạo ra dòng khuyết thiếu IgH và IgL (KO). Ví dụ, để biết thêm các chi tiết, xin xem tài liệu: Geurts và đồng tác giả, 2009, Science 325:433. Quá trình xác định đặc điểm chuột cống khuyết thiếu chuỗi nặng Ig đã được ghi nhận bằng tài liệu: Menoret và đồng tác giả, 2010, Eur. J. Immunol. 40:2932-2941. Các ưu điểm của công nghệ ZNF là sự nối liền đầu mút không tương đồng để làm bất hoạt gen hoặc ổ gen thông qua các dạng xóa bỏ lên đến một vài kb cũng có thể đem lại vị trí đích cho phương pháp tích hợp tương đồng (Cui và đồng tác giả, 2011, Nat Biotechnol 29:64-67). Các kháng thể chuỗi nặng của người được tạo ra ở UniRat™ được gọi là UniAb™ và có thể liên kết epitop mà không thể bị tấn công bằng các kháng thể thông thường. Tính đặc hiệu, ái lực cao, và kích cỡ nhỏ của chúng làm cho chúng trở nên lý tưởng cho các ứng dụng đơn đặc hiệu và đa đặc hiệu.

Ngoài UniAb™ ra, cụ thể là, được lấy vào trong bản mô tả này là các kháng thể chỉ có chuỗi nặng thiếu khung VHH lạc đà và các đột biến, và các vùng VH chức năng của chúng. Ví dụ, có thể tạo ra các kháng thể chỉ có chuỗi nặng như vậy ở chuột nhắt hoặc chuột cống chuyển gen mà bao gồm ổ gen của gen chỉ có chuỗi nặng hoàn toàn của

người như được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: WO2006/008548, nhưng các động vật có vú chuyển gen khác, như thỏ, chuột lang nhà, chuột cống cũng có thể được sử dụng, chuột cống và chuột nhắt là được ưu tiên. Cũng có thể tạo ra các kháng thể chỉ có chuỗi nặng, bao gồm cả các mảnh chức năng VHH hoặc VH của chúng, bằng công nghệ ADN tái tổ hợp, bằng phương pháp biểu hiện axit nucleic mã hóa ở vật chủ nhân sơ hoặc nhân thực thích hợp, bao gồm cả, ví dụ, các tế bào động vật có vú (ví dụ, tế bào CHO), E. coli hoặc nấm men.

Miền của kháng thể chỉ có chuỗi nặng kết hợp các ưu điểm của các kháng thể và các thuốc phân tử nhỏ: có thể là đơn hóa trị hoặc đa hóa trị; có độc tính thấp; và hữu hiệu về phí tổn để sản xuất. Do kích cỡ nhỏ của chúng, các miền này dễ dàng để cho dùng, bao gồm cả phương thức dùng qua đường miệng hoặc khu trú bên ngoài, đặc trưng bởi tính ổn định cao, bao gồm cả tính ổn định trong dạ dày-ruột; và thời gian bán hủy của chúng có thể được tùy chỉnh theo cách sử dụng hoặc chỉ định mong muốn. Ngoài ra, các miền VH và VHH của HCAb có thể được sản xuất theo phương thức hữu hiệu về phí tổn.

Theo một phương án cụ thể, các kháng thể chuỗi nặng theo sáng chế này, bao gồm cả UniAbTM, có gốc axit amin nguyên thể ở vị trí thứ nhất của vùng FR4 (axit amin vị trí 101 theo hệ thống đánh số Kabat), được thể bằng một gốc axit amin khác, gốc này có khả năng phá vỡ miếng kỵ nước lộ ra trên bề mặt bao gồm hoặc gắn liền với gốc axit amin nguyên thể ở vị trí đó. Các miếng kỵ nước như vậy được chôn vùi một cách bình thường ở mặt phân giới với vùng hằng định chuỗi nhẹ của kháng thể nhưng trở nên lộ ra trên bề mặt ở HCAb và, ít nhất là một phần, dùng cho quá trình kết tụ không mong muốn và sự gắn liền chuỗi nhẹ của HCAb. Tốt hơn, nếu gốc axit amin được thể mang điện tích, và tốt hơn nữa, nếu là mang điện tích dương, như lysin (Lys, K), arginin (Arg, R) hoặc histidin (His, H), tốt hơn, nếu là arginin (R). Theo một phương án được ưu tiên, kháng thể chỉ có chuỗi nặng được tạo ra từ động vật chuyển gen chứa đột biến Trp thành Arg ở vị trí 101. Tốt hơn, nếu HCAb thu được có ái lực liên kết kháng nguyên và độ hòa tan cao trong điều kiện sinh lý khi thiếu vắng quá trình kết tụ.

Trong vai trò là một phần của sáng chế này, đã nhận diện được các kháng thể chuỗi nặng kháng CD22 của người có các trình tự đặc thù từ chuột UniRatTM (UniAbTM) mà liên kết CD22 của người trong thử nghiệm protein ELISA và thử nghiệm liên kết tế bào. Các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) đã được nhận diện (xem, ví dụ, Bảng 2) là dương tính với khả năng liên kết protein CD22 của người và/hoặc với khả năng liên

kết với tế bào dương tính với CD22, và đều âm tính với khả năng liên kết với các tế bào mà không biểu hiện CD22.

Các kháng thể chuỗi nặng liên kết với các epitop không chồng lấn trên protein CD22, ví dụ, UniAb™ có thể được nhận diện bằng các thử nghiệm liên kết cạnh tranh, như thử nghiệm miễn dịch được liên kết enzym (thử nghiệm ELISA) hoặc các thử nghiệm liên kết cạnh tranh đếm tế bào theo dòng chảy. Ví dụ, ta có thể sử dụng khả năng cạnh tranh giữa các kháng thể đã biết liên kết với kháng nguyên đích và kháng thể đang được quan tâm. Bằng cách sử dụng phương pháp này, ta có thể phân chia tập hợp gồm các kháng thể thành những loại mà cạnh tranh với kháng thể tham chiếu và những loại mà không cạnh tranh với kháng thể tham chiếu. Các kháng thể không cạnh tranh được nhận diện là liên kết với epitop khác biệt mà không chồng lấn với epitop được liên kết bởi kháng thể tham chiếu. Thường thì, một kháng thể được làm bất động, kháng nguyên được liên kết, và kháng thể được đánh dấu, thứ hai (ví dụ, được biotin hóa) được kiểm tra trong thử nghiệm ELISA về khả năng liên kết kháng nguyên được bắt. Cũng có thể thực hiện việc này bằng cách sử dụng nền tảng cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance-SPR), bao gồm cả ProteOn XPR36 (BioRad, Inc), Biacore 2000 và Biacore T200 (GE Healthcare Life Sciences), và thiết bị xử lý hình ảnh MX96 SPR (Ibis technologies B.V.), cũng như trên nền tảng đo giao thoa lớp sinh học, như Octet Red384 và Octet HTX (ForteBio, Pall Inc). Để biết thêm chi tiết, xem các ví dụ trong bản mô tả này.

Thông thường, kháng thể “cạnh tranh” với kháng thể tham chiếu nếu nó gây ra mức giảm khoảng 15-100% về khả năng liên kết kháng thể tham chiếu với kháng nguyên đích, như được xác định bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn, như bằng các thử nghiệm liên kết cạnh tranh được mô tả trên đây. Theo các phương án khác nhau, mức ức chế tương đối là ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, ít nhất khoảng 50% ít nhất khoảng 55%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95% hoặc cao hơn.

Các chế phẩm được, cách sử dụng và phương pháp điều trị

Một khía cạnh khác của sáng chế này là đem lại các chế phẩm được bao gồm một hoặc nhiều hợp chất liên kết đa đặc hiệu theo sáng chế này trong hỗn hợp với chất mang được dụng thích hợp. Các chất mang được dụng như được sử dụng trong bản mô tả này được lấy làm ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất phụ trợ, chất mang rắn, nước, dung dịch đệm, hoặc các chất mang khác được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này để giữ các hợp phần trị liệu, hoặc các dạng kết hợp của chúng.

Theo một phương án, chế phẩm được chứa kháng thể chuỗi nặng (ví dụ, UniAb™) mà liên kết với CD22. Theo một phương án khác, chế phẩm được chứa kháng thể chuỗi nặng đa đặc hiệu (bao gồm cả đặc hiệu kép) (ví dụ, UniAb™) có tính đặc hiệu liên kết đối với hai epitop không chồng lấn trở lên trên protein CD22. Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm được chứa kháng thể chuỗi nặng đa đặc hiệu (bao gồm cả đặc hiệu kép) (ví dụ, UniAb™) có tính đặc hiệu liên kết với CD22 và có tính đặc hiệu liên kết với đích liên kết trên tế bào tác động (ví dụ, đích liên kết trên tế bào T, như, ví dụ, protein CD3 trên tế bào T).

Chế phẩm được của các kháng thể được sử dụng theo sáng chế này được điều chế để lưu trữ bằng cách trộn protein có mức độ tinh khiết mong muốn với các chất mang được dụng, tá dược hoặc chất làm ổn định tùy ý (ví dụ, xem tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences lần in thứ 16, Osol, A. Ed. (1980)), như dưới dạng các dạng chế phẩm được đông khô hoặc dung dịch nước. Các chất mang, tá dược, hoặc chất làm ổn định được dụng là không độc hại đối với đối tượng tiếp nhận ở liều dùng và nồng độ được sử dụng, và bao gồm dung dịch đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và metionin; các chất bảo quản (như octadexyldimethylbenzyl amoni clorua; hexametoni clorua; benzalkoni clorua, benzethoni clorua; phenol, butyl hoặc rượu benzyl; alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorxinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; monosacarit, disacarit, và các carbohydrat khác bao gồm cả glucoza, manozơ, hoặc dextrin; các chất tạo chelat như EDTA; đường như sucroza, manitol, trehaloza hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; các phức chất kim loại (ví dụ, phức chất Zn-protein); và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion như TWEEN™, PLURONICS™ hoặc polyetylen glycol (PEG).

Tốt hơn, nếu các chế phẩm được cho phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa là vô trùng và về cơ bản đẳng trương và được sản xuất trong điều kiện Thực hành Sản xuất Tốt (Good Manufacturing Practice-GMP). Các chế phẩm được có thể được bố trí dưới dạng liều dùng đơn vị (tức là, liều dùng cho một lần dùng). Dạng chế phẩm phụ thuộc vào đường dùng được chọn. Các kháng thể trong bản mô tả này có thể được cho dùng bằng phương pháp tiêm trong tĩnh mạch hoặc tiêm truyền hoặc theo kiểu dưới da. Đối với phương thức dùng bằng tiêm, các kháng thể trong bản mô tả này có thể được tạo dạng chế phẩm trong dung dịch nước, tốt hơn, nếu là trong dung dịch đệm tương hợp về mặt sinh lý để làm giảm mức khó chịu ở vị trí tiêm. Dung dịch này có thể chứa chất mang, tá dược, hoặc chất làm ổn định như được bàn luận trên đây. Theo cách khác, các kháng thể có thể là dưới dạng được đông khô dùng để hoàn nguyên với chất dẫn thích hợp, ví dụ, nước không có chất gây sốt vô trùng, trước khi sử dụng.

Các dạng chế phẩm kháng thể được bộc lộ, ví dụ, trong Bằng sáng chế Mỹ số 9,034,324. Có thể sử dụng các dạng chế phẩm tương tự cho các kháng thể chuỗi nặng, bao gồm cả UniAb™, theo sáng chế này. Các dạng chế phẩm kháng thể dưới da được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: US20160355591 và US20160166689.

Các phương pháp sử dụng

Các kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22, các kháng thể đa đặc hiệu, và các chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng cho việc điều trị các bệnh và tình trạng đặc trưng bởi quá trình biểu hiện của CD22, bao gồm, mà không chỉ giới hạn ở, các tình trạng và bệnh được mô tả thêm trong bản mô tả này.

CD22 là protein xuyên màng loại I 135-kDa được biểu hiện ở các mức thấp trên các tế bào B trước và chưa trưởng thành, tối đa trên tế bào B trưởng thành và cuối cùng được điều hòa giảm trên các tương bào. (Ví dụ, Walker và đồng tác giả, Immunology, 2008 Mar; 123(3) 314-25). CD22 được biểu hiện mạnh trong các tế bào B thể nang (các vùng tế bào B sơ cấp và thứ cấp), áo nang và vùng rìa, và đã được báo cáo là có mặt trong 60% đến 80% mẫu được lấy từ bệnh nhân mắc các bệnh ác tính tế bào B (Alderson và đồng tác giả, Clin. Cancer Res 2009;15(3) 11 tháng 2 năm 2009). Do biểu hiện được quan sát thấy ở một số bệnh lý huyết học ác tính, CD22 là một mục tiêu đầy hứa hẹn cho các phương pháp điều trị dựa trên kháng thể.

Theo một khía cạnh, các kháng thể chuỗi nặng CD22 (ví dụ, UniAbs™) và các chế phẩm dược trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị các bệnh lý huyết học ác tính được đặc trưng bởi sự biểu hiện của CD22, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, u bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u bạch huyết không phải thể Hodgkin, Ung thư máu mãn tính bạch huyết bào tế bào B (CLL), và ung thư máu cấp tính nguyên bạch huyết bào tế bào B (ALL).

U bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL hoặc DLBL) là dạng u bạch huyết phổ biến nhất không phải thể Hodgkin ở người lớn (Blood 1997 89 (11): 3909-18), với tỷ lệ mắc hàng năm ước tính từ 7 đến 8 trường hợp trên 100.000 người mỗi năm ở Mỹ và Anh. Nó có đặc trưng là dạng ung thư tăng triển có thể phát sinh ở hầu như bất kỳ bộ phận nào của cơ thể. Nguyên nhân của DLBCL vẫn chưa được hiểu rõ, và nó có thể phát sinh từ các tế bào B bình thường cũng như sự biến đổi ác tính của các loại tế bào u bạch huyết hoặc bệnh bạch cầu khác. Các phương pháp điều trị thường bao gồm hóa trị và xạ trị, và đã dẫn đến tỷ lệ sống sót sau 5 năm nói chung là khoảng 58% đối với người lớn. Mặc dù một số kháng thể đơn dòng có triển vọng điều trị DLBCL, nhưng hiệu quả lâm sàng nhất quán vẫn chưa được chứng minh một cách thuyết phục. Do đó, vẫn có nhu cầu lớn về các liệu pháp mới, bao gồm cả liệu pháp miễn dịch, đối với DLBCL.

Theo một khía cạnh khác, các kháng thể chuỗi nặng CD22 (ví dụ, UniAbs™) và các chế phẩm dược trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị các bệnh tự miễn được đặc trưng bởi các tế bào B gây bệnh mà biểu hiện CD22, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, luput ban đỏ toàn thân (SLE), viêm đa khớp dạng thấp (RA), và bệnh đa xơ cứng (MS).

Liều lượng hữu hiệu của các chế phẩm theo sáng chế này dùng cho việc điều trị bệnh thay đổi tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, bao gồm cả phương tiện cho dùng, vị trí đích, trạng thái sinh lý của đối tượng bệnh, dù đối tượng bệnh là người hay động vật, các phương thuốc được cho dùng khác, và dù phương pháp điều trị là phòng bệnh hay trị liệu. Thông thường, đối tượng bệnh là người, nhưng động vật có vú không phải người cũng có thể được điều trị, ví dụ, động vật đồng hành như chó, mèo, ngựa, v.v., động vật có vú phòng thí nghiệm như thỏ, chuột nhắt, chuột cống, v.v., và các động vật tương tự. Có thể chuẩn độ các liều dùng điều trị để tối ưu hóa độ an toàn và độ hiệu nghiệm.

Mức liều dùng có thể được người có hiểu biết trung bình lâm sàng có trình độ trung bình xác định một cách dễ dàng, và có thể được cải biến khi cần thiết, ví dụ, khi cần

thiết để cải biến đáp ứng của đối tượng với liệu pháp. Lượng của thành phần có hoạt tính mà có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra dạng liều dùng đơn lẻ thay đổi tùy thuộc vào vật chủ được điều trị và phương thức cho dùng cụ thể. Dạng liều dùng đơn vị thường chứa từ khoảng 1mg đến khoảng 500mg của thành phần có hoạt tính.

Theo một số phương án, liều dùng trị liệu của chất này có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,0001 đến 100mg/kg, và thông thường hơn là 0,01 đến 5mg/kg, của thể trọng vật chủ. Ví dụ, liều dùng có thể là 1mg/kg thể trọng hoặc 10mg/kg thể trọng hoặc trong phạm vi khoảng là 1-10mg/kg. Một chế độ điều trị làm ví dụ bao gồm phương thức cho dùng hai tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần hoặc từ 3 đến 6 tháng một lần. Các thực thể trị liệu theo sáng chế này thường được cho dùng vào nhiều đợt. Các khoảng thời gian gián cách giữa các liều dùng đơn lẻ có thể là hằng tuần, hằng tháng hoặc hằng năm. Các khoảng thời gian gián cách cũng có thể là không thường xuyên như được biểu lộ bằng cách đo mức thực thể trị liệu trong máu ở đối tượng bệnh. Theo cách khác, các thực thể trị liệu theo sáng chế này có thể được cho dùng ở dạng chế phẩm giải phóng được duy trì, trong trường hợp này cần đến phương thức cho dùng ít thường xuyên hơn. Liều dùng và tần suất thay đổi tùy thuộc vào thời gian bán hủy của polypeptit ở đối tượng bệnh.

Thông thường, các chế phẩm được điều chế ở dạng chất có thể tiêm được, hoặc ở dạng dung dịch lỏng hoặc huyền phù; cũng có thể điều chế các dạng rắn thích hợp cho dung dịch trong chất dẫn lỏng, hoặc huyền phù trong chất dẫn lỏng trước khi tiêm. Các chế phẩm được trong bản mô tả này là thích hợp cho phương thức cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da, một cách trực tiếp hoặc sau khi hoàn nguyên các chế phẩm rắn (ví dụ, được đông khô). Chế phẩm này cũng có thể được nhũ hóa hoặc được bao nang trong liposom hoặc hạt micro như polylactit, polyglycolit, hoặc copolyme để có được tác dụng phụ trợ được tăng cường, như được bàn luận trên đây. Langer, Science 249: 1527, 1990 và Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97-119, 1997. Các chất theo sáng chế này có thể được cho dùng dưới dạng tiêm kho chứa hoặc chế phẩm cấy ghép mà có thể được tạo dạng chế phẩm theo phương thức mà cho phép giải phóng duy trì hoặc giải phóng theo nhịp đập thành phần có hoạt tính. Các chế phẩm được thường được tạo dạng chế phẩm ở dạng vô trùng, về cơ bản đẳng trương và tuân thủ hoàn toàn với tất cả các quy định Thực hành Sản xuất Tốt (Good Manufacturing Practice-GMP) của Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ.

Độc tính của các kháng thể và các cấu trúc kháng thể được mô tả trong bản mô tả này có thể được xác định bằng các quy trình được tiêu chuẩn ở sản phẩm nuôi cấy tế bào hoặc động vật thử nghiệm, ví dụ, bằng cách xác định LD50 (liều lượng gây chết đến 50% của quần thể) hoặc LD100 (liều lượng gây chết đến 100% của quần thể). Tỷ số liều lượng giữa tác dụng độc và tác dụng trị liệu là chỉ số trị liệu. Dữ liệu thu được từ các thử nghiệm nuôi cấy tế bào này và các nghiên cứu trên động vật có thể được sử dụng trong việc tạo khoảng liều dùng mà không độc để sử dụng ở người. Tốt hơn, nếu liều dùng của các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này nằm trong phạm vi khoảng nồng độ lưu thông mà bao gồm liều lượng hữu hiệu có ít độc tính hoặc không có độc tính. Liều dùng có thể thay đổi trong phạm vi khoảng này tùy thuộc vào dạng liều dùng được sử dụng và đường dùng được sử dụng. Dạng chế phẩm, đường dùng và liều dùng chính xác có thể được chọn bởi bác sĩ riêng biệt, có xem xét đến tình trạng của đối tượng bệnh.

Các chế phẩm để cho dùng thường sẽ bao gồm kháng thể hoặc chất khác (ví dụ, chất phá hủy khác) được hòa tan trong chất mang được dùng, tốt hơn, nếu là chất mang nước. Có thể sử dụng một loạt chất mang nước, ví dụ, dung dịch muối được đệm và các chất tương tự. Các dung dịch này là vô trùng và thường không có vật chất không mong muốn. Các chế phẩm này có thể được tiệt trùng bằng các kỹ thuật tiệt trùng thông thường, đã biết rõ. Các chế phẩm có thể chứa chất phụ trợ được dùng khi cần thiết để gần giống với tình trạng sinh lý như chất điều chỉnh độ pH và chất đệm, chất điều chỉnh độc tính và các chất tương tự, ví dụ, natri axetat, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, natri lactat và các chất tương tự. Nồng độ của chất có hoạt tính trong các dạng chế phẩm này có thể thay đổi nhiều, và sẽ được chọn lựa chủ yếu dựa trên thể tích chất lưu, độ nhớt, thể trọng và các yếu tố tương tự theo phương thức cho dùng cụ thể được chọn lựa và nhu cầu của đối tượng bệnh (ví dụ, Remington's Pharmaceutical Science (lần in thứ 15, 1980) và Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman và đồng tác giả, eds., 1996)).

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là kit chứa chất có hoạt tính và các dạng chế phẩm của chúng, theo sáng chế và các hướng dẫn sử dụng. Kit có thể còn chứa ít nhất một chất phản ứng phụ thêm, ví dụ, thuốc hóa trị liệu, v.v. Kit thường bao gồm nhãn biểu lộ cách sử dụng được dự định của các nội dung của kit. Thuật ngữ “nhãn” như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm dạng viết bất kỳ, hoặc tài liệu được ghi lại được cung cấp trên hoặc với kit, hoặc cách khác là, đi kèm với kit.

Bây giờ, sáng chế được mô tả một cách đầy đủ, sẽ trở nên sáng tỏ đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này rằng có thể tạo các dạng thay đổi và cải biến khác nhau mà không đi trạch khỏi tinh thần hoặc phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chất liệu và phương pháp

Khả năng liên kết của protein CD22

Các thử nghiệm liên kết động học để xác định các ái lực liên kết của kháng thể với kháng nguyên được thực hiện trên hệ thống Octet QK-384 (ForteBio) bằng cách sử dụng phương pháp đo giao thoa hai lớp. Các thiết bị cảm biến sinh học kháng thể kháng IgG Fc Capture (AHC) của người (Forte Bio, Part No: 18-5064) được hydrat hóa trong dung dịch đệm thử nghiệm (1x PBS, BSA 0,1%, Tween-20 0,02%, pH 7,2) và được điều chỉnh trước trong Glyxin 100mM pH 1,5. Đường cơ sở được thiết lập trong đệm thử nghiệm trong 120 giây. Các thiết bị cảm biến sinh học AHC sau đó được cố định bằng UniAbs™ ở nồng độ 5 µg/mL trong 120 giây. Một đường cơ sở khác (120 giây) được thiết lập trong đệm thử nghiệm. Tiếp theo, các thiết bị cảm biến được nhúng vào dãy pha loãng nối tiếp 7 điểm, tỷ lệ 1:2 của protein CD22 của người trong đệm thử nghiệm, bắt đầu từ nồng độ 250 nM. Giếng cuối cùng của cột phân tích chỉ chứa đệm thử nghiệm để kiểm tra sự liên kết không đặc hiệu giữa đệm này và các cảm biến sinh học được nạp, và được sử dụng làm giếng tham chiếu. Sự liên kết được quan sát trong 600 giây, sau đó là sự phân ly trong 900 giây. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm phân tích dữ liệu Octet v9.0 (ForteBio). Động học liên kết được phân tích bằng cách sử dụng mô hình liên kết chuẩn 1: 1.

Khả năng liên kết tế bào của CD22

Khả năng liên kết với các tế bào dương tính với CD22 được đánh giá bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy (Guava easyCyte 8HT, EMD Millipore) bằng cách sử dụng dòng tế bào Daudi (ATCC). Nói một cách vắn tắt, 100.000 tế bào đích được nhuộm bằng dãy pha loãng nối tiếp của UniAbs™ được tinh chế trong 30 phút ở 4°C. Sau khi ủ, các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch đệm của phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy (1X PBS, BSA 1%, NaN₃ 0,1%) và được nhuộm bằng kháng thể của dê F(ab')₂ kháng IgG của người được liên hợp với R-phycoerythrin (PE) (Southern Biotech, cat. #2042-09) để phát hiện các kháng thể được liên kết với tế bào. Sau khi ủ 20 phút ở 4°C, các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch đệm của phương pháp đếm tế bào theo dòng

chảy và sau đó cường độ huỳnh quang trung bình (MFI) được đo bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy. Các trị số EC50 được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 7. Khả năng liên kết với các tế bào dương tính với CD22 của khí đuôi dài được xác định bằng cách sử dụng cùng quy trình tương tự có các dạng cải biến sau đây: các tế bào đích là từ các tế bào CHO được chuyển nhiễm một cách ổn định để biểu hiện miền ngoại bào của CD22 của khí đuôi dài và mỗi kháng thể được thử nghiệm ở nồng độ đơn lẻ ($\sim 1,7 \mu\text{g/mL}$) vì vậy các trị số EC50 không được tính.

Ví dụ 1: Chuột được thao tác di truyền biểu hiện các kháng thể chỉ có chuỗi nặng

Ổ gen IgH của ‘người - chuột’ được xây dựng và lắp ráp trong nhiều phần. Điều này liên quan đến việc cải biến và nối các gen vùng C của chuột xuôi dòng với các J_H của người và sau đó là bổ sung ngược dòng vùng đoạn V_{H6} –D của người. Sau đó hai BAC với các cụm gen V_H riêng biệt của người [BAC6 và BAC3] được tiêm đồng thời với BAC có tên là Georg, mã hóa vùng được lắp ráp và sửa đổi bao gồm V_{H6} của người, tất cả các vùng D, J_H và $C\gamma 2a/1/2b$ của chuột đã được cải biến (ΔC_{H1}).

Chuột chuyển gen mang các ổ gen globulin miễn dịch chuỗi nặng nhân tạo ở cấu hình chưa được sắp xếp được tạo ra. Các gen $IgG2a(\Delta C_{H1})$., $IgG1(\Delta C_{H1})$., $IgG2b(\Delta C_{H1})$ thiếu đoạn C_{H1} . Các gen vùng hằng định IgE , IgA và gen tăng cường 3’ được đưa vào Georg BAC. Phân tích RT-PCR và huyết thanh (ELISA) về chuột chuyển gen cho thấy sự sắp xếp lại hiệu quả của các ổ gen globulin miễn dịch chuyển gen và sự biểu hiện của các kháng thể chỉ có chuỗi nặng với các kiểu tương đồng cùng loài khác nhau trong huyết thanh. Chuột chuyển gen đã được lai chéo với chuột có ổ gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nội sinh đột biến được mô tả trước đây trong công bố bằng sáng chế Mỹ số 2009/0098134 A1. Phân tích những động vật này cho thấy sự bất hoạt trong biểu hiện chuỗi nặng và nhẹ của globulin miễn dịch của chuột và sự biểu hiện ở mức độ cao của kháng thể chuỗi nặng với các vùng biến đổi được mã hóa bởi các gen V, D và J của người. Việc gây miễn dịch cho chuột chuyển gen tạo ra các đáp ứng huyết thanh hiệu giá cao của các kháng thể chuỗi nặng đặc hiệu với kháng nguyên. Chuột chuyển gen này biểu hiện kháng thể chuỗi nặng với vùng VDJ của người được gọi là UniRatsTM.

Ví dụ 2: Gây miễn dịch

Gây miễn dịch bằng miền ngoại bào tái tổ hợp của CD22.

Mười hai con vật UniRat (6 HC27, 6 HC28) được gây miễn dịch bằng protein CD22 tái tổ hợp của người. Các con vật được gây miễn dịch theo quy trình chuẩn sử dụng tá chất Titermax/Alhydrogel. Miễn ngoại bào tái tổ hợp của CD22 được mua từ R&D Systems và được pha loãng với nước muối vô trùng và kết hợp với tá chất. Kháng nguyên được kết hợp với các tá chất Titermax và Alhydrogel. Liều gây miễn dịch đầu tiên (mỗi) với kháng nguyên trong Titermax được cấp ở chân trái và chân phải. Các liều gây miễn dịch tăng cường tiếp theo được cấp với sự có mặt của Alhydrogel và ba ngày trước khi thu hoạch, các liều tăng cường được thực hiện với các kháng nguyên trong PBS. Huyết thanh được thu từ chuột ở lần lấy máu cuối cùng để xác định hiệu giá huyết thanh.

Các kết quả hiệu giá huyết thanh

Thông tin tóm tắt về hiệu giá huyết thanh được thể hiện trên FIG 17. Ở các biểu đồ được mô tả trên FIG. 17, mỗi đường biểu diễn mỗi con vật riêng biệt. Các chú thích của biểu đồ thể hiện số hiệu nhận diện của mỗi con vật riêng biệt. Hoạt tính liên kết của dãy pha loãng nối tiếp 8 điểm của huyết thanh được kiểm tra bằng ELISA chống lại protein Fc dương tính với CD22 của người, protein thể His dương tính với CD22 của người, protein thể His dương tính với CD22 của khỉ rhesus, và protein ngoại đích thể His. Trong số nhóm con vật này, đã quan sát thấy một khoảng gồm các mức phản ứng huyết thanh đối với cả protein CD22 của người và khỉ rhesus. Cũng quan sát thấy đáp ứng huyết thanh với protein thể His.

Ví dụ 3: Liên kết với các dòng tế bào biểu hiện CD22

FIG. 16 tóm tắt hoạt tính liên kết đích của các kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22 được mô tả trong bản mô tả này. Cột 1 chỉ ra số hiệu nhận diện Dòng của kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD22. Cột 2 chỉ ra ái lực liên kết với protein (KD) được đo bằng mol. Cột 3 chỉ ra hằng số phân ly của liên kết với protein (tỷ lệ K-off) được đo bằng giây. Cột 4 chỉ ra khả năng liên kết với các tế bào Daudi được đo ở dạng gấp mấy lần so với tín hiệu MFI nền. Cột 5 chỉ ra mức liên kết với các tế bào CHO biểu hiện ổn định CD22 của khỉ đuôi dài được đo dưới dạng gấp mấy lần so với tín hiệu MFI nền. Cột 6 chỉ ra sự liên kết với các tế bào CHO không biểu hiện protein CD22 được đo dưới dạng gấp mấy lần so với tín hiệu MFI nền.

Ví dụ 4: Tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 bằng cách sử dụng các tế bào T pan nghĩ của người

Tế bào T của người không được kích thích được ủ với tế bào dương tính với CD22 (Daudi) và các nồng độ khác nhau của các kháng thể đặc hiệu kép. Sau 48 giờ, phép đo tế bào dòng chảy được thực hiện trên các tế bào để đo tính gây độc tế bào. Dịch nổi từ môi trường nuôi cấy tế bào được sử dụng để đo mức độ giải phóng xytokin IL-2. Kháng thể POS CTRL đề cập đến kháng thể bao gồm cùng một nhánh kháng CD22, nhưng là nhánh kháng CD3 với ái lực mạnh hơn. Kết quả được đưa ra trong Fig. 1A và FIG. 1B.

Tế bào T của người không được kích thích được ủ với các tế bào dương tính với CD22 (SUDHL10) và các nồng độ khác nhau của các kháng thể đặc hiệu kép. Sau 72 giờ, phép đo tế bào dòng chảy được thực hiện trên các tế bào để đo tính gây độc tế bào. Dịch nổi từ môi trường nuôi cấy tế bào được sử dụng để đo mức độ giải phóng xytokin IL-2. Kháng thể POS CTRL đề cập đến kháng thể bao gồm cùng một nhánh kháng CD22, nhưng là nhánh kháng CD3 với ái lực mạnh hơn. Kết quả được đưa ra trong FIG. 2A và FIG. 2B.

Tế bào T của người không được kích thích được ủ với dòng tế bào DL-BCL dương tính với CD22 (RI-1) và các nồng độ khác nhau của các kháng thể đặc hiệu kép với các tỉ lệ tế bào tác động:đích khác nhau (E:T) 10:1, 5:1 hoặc 1:1. Sau 72 giờ, phép đo tế bào dòng chảy được thực hiện trên các tế bào để đo tính gây độc tế bào. Dịch nổi từ môi trường nuôi cấy tế bào được sử dụng để đo mức độ giải phóng xytokin IL-2. Kháng thể POS CTRL đề cập đến kháng thể bao gồm cùng một nhánh kháng CD22, nhưng là nhánh kháng CD3 với ái lực mạnh hơn. Dữ liệu thể hiện mức gây độc tế bào theo phần trăm phụ thuộc vào tỷ lệ E:T. Kết quả được đưa ra trong FIG. 3A và FIG. 3B.

Ví dụ 5: Tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của các tế bào dương tính với CD22 bằng cách sử dụng các tế bào T pan được hoạt hóa của người

Các tế bào T của người được hoạt hóa được ủ với các tế bào dương tính với CD22 (Daudi và RI-1) hoặc dòng tế bào âm tính với CD22 (K562) và các nồng độ khác nhau của các kháng thể đặc hiệu kép. Sự phân giải tế bào được đo bằng cách sử dụng kết quả đọc huỳnh quang dựa trên calcein. Cụ thể là, các hợp chất liên kết CD22xCD3_F2F đặc hiệu kép gây ra sự phân giải các tế bào dương tính với CD22, nhưng không phân giải các tế bào CD22- K562. Kháng thể POS CTRL đề cập đến kháng thể bao gồm cùng một nhánh kháng CD22, nhưng là nhánh kháng CD3 với ái lực mạnh hơn. NEG CTRL đề cập đến kháng thể có nhánh khối u không đặc hiệu và nhánh kháng CD3 giống với nhánh kháng CD3_F2F. Kết quả được đưa ra trong FIG. 4.

Ví dụ 6: Khả năng liên kết tế bào của các kháng thể đặc hiệu kép kháng CD22 và CD3

Các tế bào dương tính với CD22 Daudi, Raji, Ramos và các tế bào âm tính với CD22 K562 được ủ với các kháng thể đặc hiệu kép. Sự liên kết tế bào được đo bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy bằng cách sử dụng chất phản ứng kháng thể thứ cấp kháng IgG của người. Các dữ liệu thể hiện các kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các tế bào dương tính với CD22, mà không phản ứng với các tế bào âm tính với CD22. Kháng thể POS CTRL đề cập đến kháng thể bao gồm cùng một nhánh kháng CD22, nhưng là nhánh kháng CD3 với ái lực mạnh hơn. NEG CTRL đề cập đến kháng thể có nhánh khối u không đặc hiệu và nhánh kháng CD3 giống với nhánh kháng CD3_F2F. Kết quả được đưa ra trong FIG. 5.

Ví dụ 7: Thử nghiệm độ hiệu nghiệm *in vivo* với CD22-1 x CD3_F2F trong các mô ghép dị loài Daudi

Để kiểm tra độ hiệu nghiệm *in vivo* của CD22-1 x CD3_F2F, các liều lượng khác nhau của CD22-1 x CD3_F2F đã được sử dụng cho chuột NSG cái được cấy ghép với các tế bào Daudi (5e6 tế bào/chuột) như được thể hiện trong Fig. 6. Lịch điều trị được thể hiện dưới đây trong Bảng 7. Thể tích khối u trung bình, thể trọng, sự thay đổi thể trọng theo phần trăm, và thể tích khối u của từng cá thể được sử dụng để đánh giá hiệu quả điều trị

Bảng 7: Lịch điều trị của mẫu

Nhóm	Chất điều trị	Liều lượng	Đường dùng	n	Lịch biểu
1	PBS	---	trong màng bụng	10	
2	CD22-1 x CD3_F2F	0,05 (1µg/chuột)	trong màng bụng	10	2 lần/tuần (3-4 ngày một lần) x 4
3	CD22-1 x CD3_F2F	0,5 (10 µg/chuột)	trong màng bụng	10	2 lần/tuần (3-4 ngày một lần) x 4

4	CD22-1 x CD3_F2F	2,5 (50 µg/chuột)	trong màng bụng	10	2 lần/tuần (3-4 ngày một lần) x 4
5	CD19 x CD3 BiTe	0,05 (1 µg/chuột)	trong màng bụng	10	mỗi ngày một lần x10
6	Rituximab	15 (300 µg/chuột)	trong màng bụng	10	2 lần/tuần (3-4 ngày một lần) x 4

Dữ liệu từ CD22-1 x CD3_F2F được thể hiện trong các FIG. 7-13, so với đối chứng âm và Rituximab, và chứng minh hiệu quả của CD22-1 x CD3_F2F.

Trong khi các phương án được ưu tiên của sáng chế này đã được thể hiện và mô tả trong bản mô tả này, thì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rõ rằng các phương án như vậy được đề xuất chỉ bằng cách lấy làm ví dụ mà thôi. Bây giờ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này thấy có xảy ra các dạng thay đổi, biến đổi, và dạng thay thế mà không đi trệch khỏi sáng chế. Cần phải hiểu rằng các lựa chọn thay thế khác nhau khác của các phương án của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong việc thực hành sáng chế. Được dự định rằng các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây xác định phạm vi của sáng chế và rằng các phương pháp và các cấu trúc trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ này và các điểm tương đương của chúng sẽ được bao quát nhờ đó.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đa đặc hiệu bao gồm đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

(a) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 11, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 18;

(b) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12 và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 19; hoặc

(c) trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 20; và

trong đó đơn vị liên kết thứ hai bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87; và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90.

2. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 1, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với SEQ ID NO: 25.

3. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 2, trong đó đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO: 25.

4. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 1, trong đó các trình tự CDR1, CDR2 và CDR3 có mặt trong khung VH của người.

5. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó kháng thể này là đặc hiệu kép.

6. Kháng thể đa đặc hiệu bao gồm đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 và đơn vị liên kết thứ hai có ái lực liên kết với CD3;

trong đó đơn vị liên kết thứ nhất có ái lực liên kết với CD22 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 1, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 12, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 19; và

trong đó đơn vị liên kết thứ hai bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 85, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 86, và trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 87; và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự CDR1 có SEQ ID NO: 88, trình tự CDR2 có SEQ ID NO: 89, và các trình tự CDR3 có SEQ ID NO: 90.

7. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, bao gồm vùng Fc của IgG1 người.

8. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 7, trong đó vùng Fc của IgG1 người là vùng Fc bất hoạt của IgG1 người.

9. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, bao gồm vùng Fc của IgG4 người.

10. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 9, trong đó vùng Fc của IgG4 người là vùng Fc bất hoạt của IgG4 người.

11. Chế phẩm dược bao gồm kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10.

12. Polynucleotit mã hóa kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10.
13. Véc-tơ bao gồm polynucleotit theo điểm 12.
14. Tế bào bao gồm véc-tơ theo điểm 13.
15. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 6, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92.
16. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 15, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 98.
17. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 15, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 99.
18. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 15, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 100.
19. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 15, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có ái lực liên kết với CD3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 101.
20. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 9, trong đó vùng Fc của IgG4 người bao gồm đột biến vùng bản lề.
21. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 9, trong đó vùng Fc của IgG4 người bao gồm nhiều đột biến chốt-vào-lỗ.

22. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 9, trong đó vùng Fc của IgG4 người bao gồm lysin đầu tận cùng C.
23. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 9, trong đó vùng Fc của IgG4 người không bao gồm lysin đầu tận cùng C.
24. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 và 15 đến 23, mà ở dạng thức CAR-T.

1 / 21

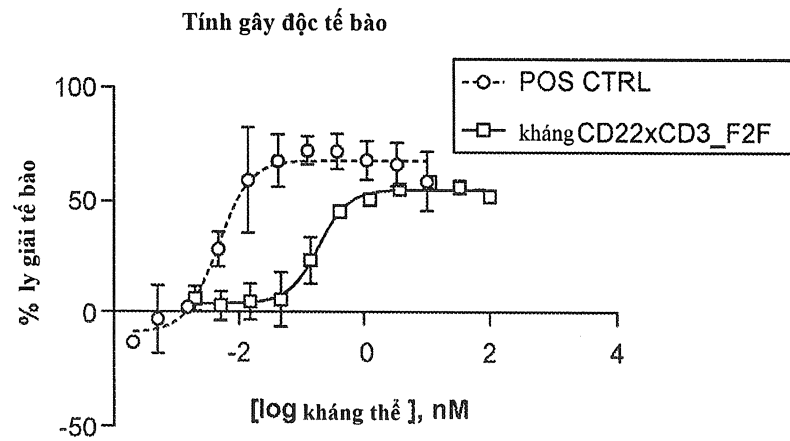


FIG. 1A

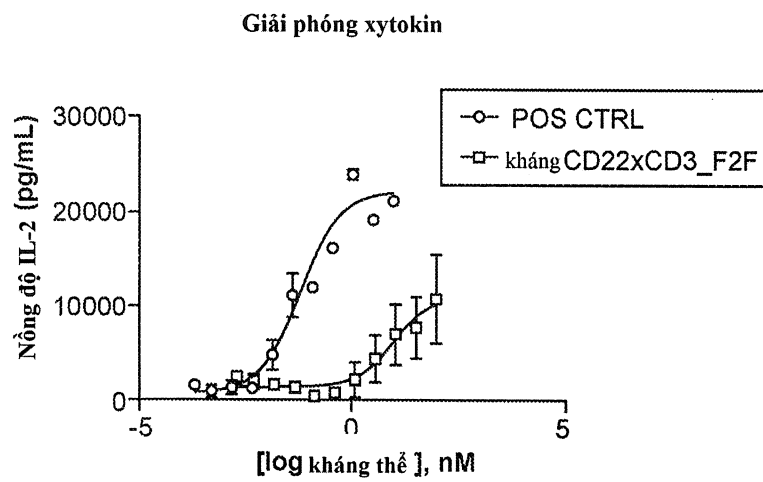


FIG. 1B

2 / 21

Tính gây độc tế bào

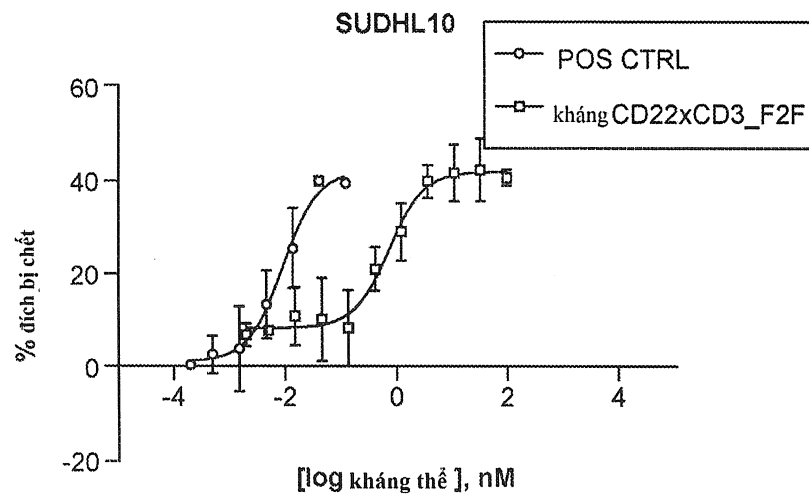


Fig. 2 A

Giải phóng xytokin

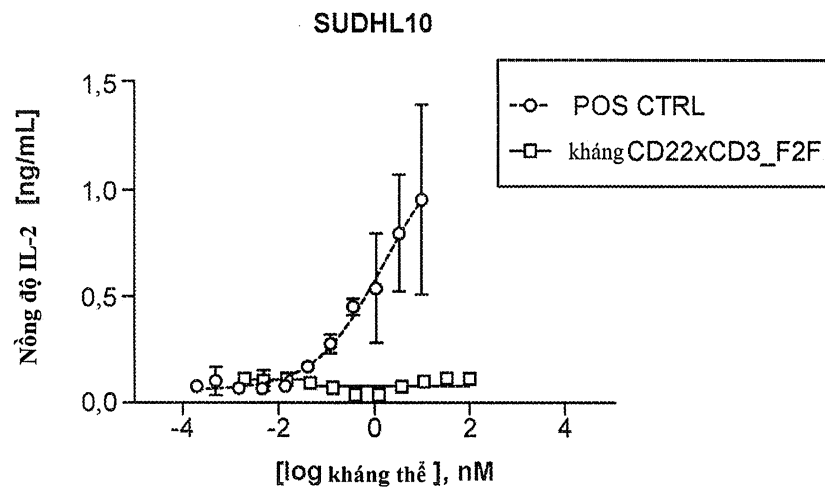
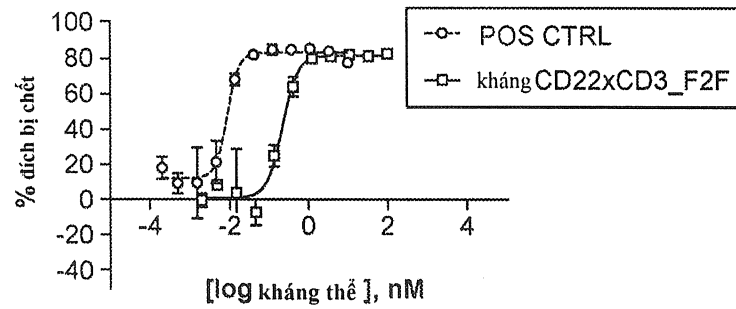


Fig. 2B

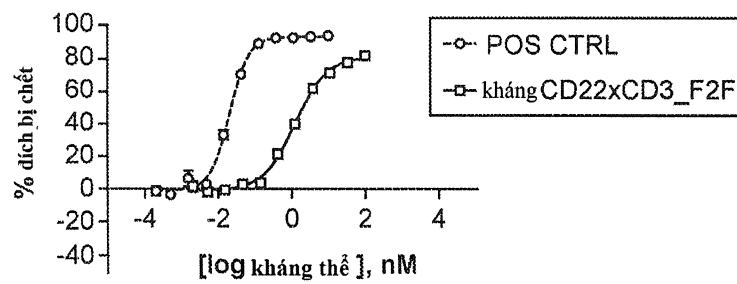
3 / 21

Tinh gây độc tế bào

E:T 10:1



E:T 5:1



E:T 1:1

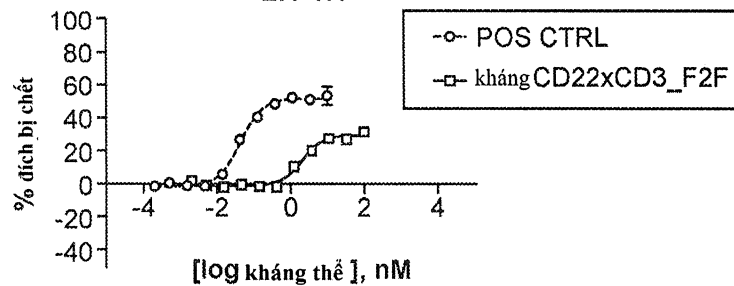


Fig. 3A

4 / 21

Giải phóng xytokin

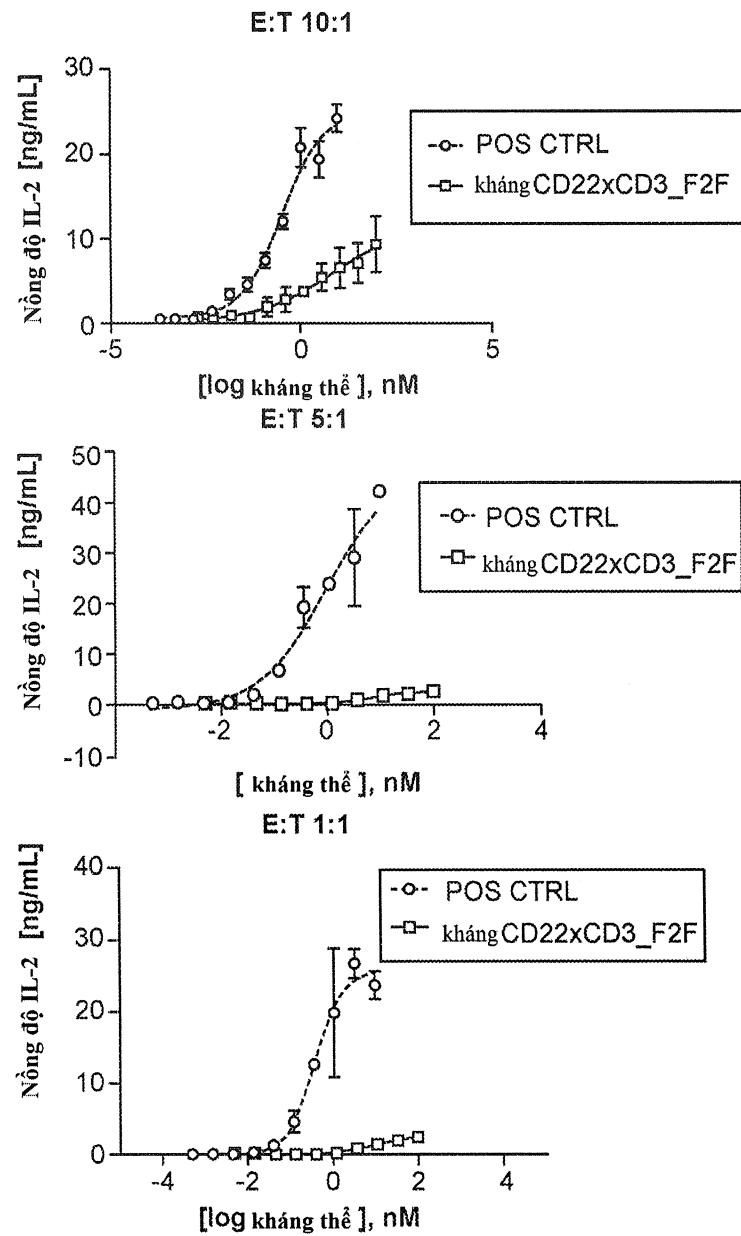
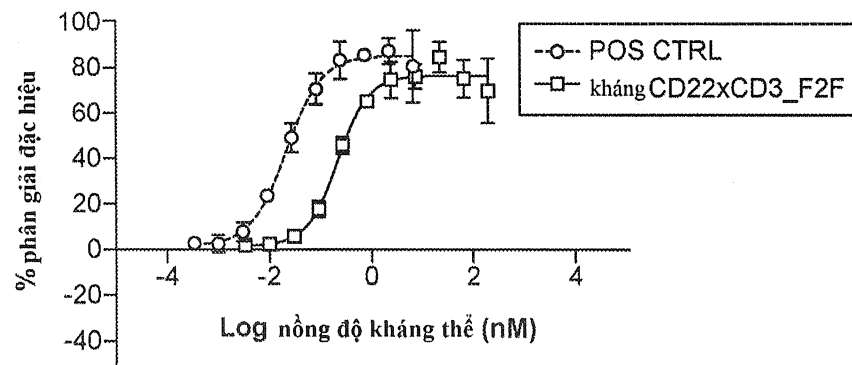


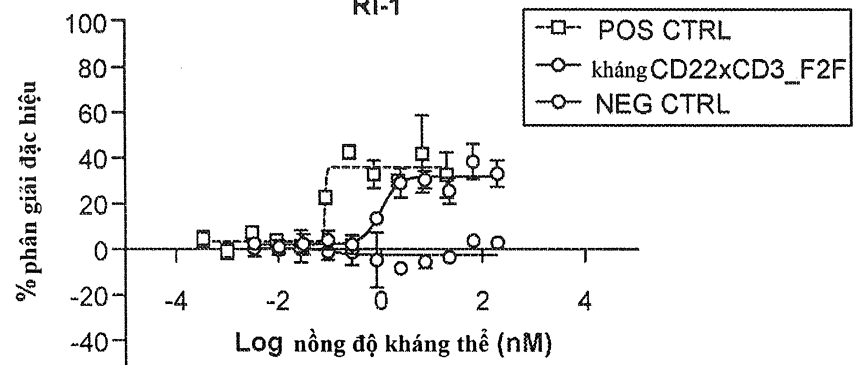
Fig. 3B

5 / 21

Daudi



RI-1



K562

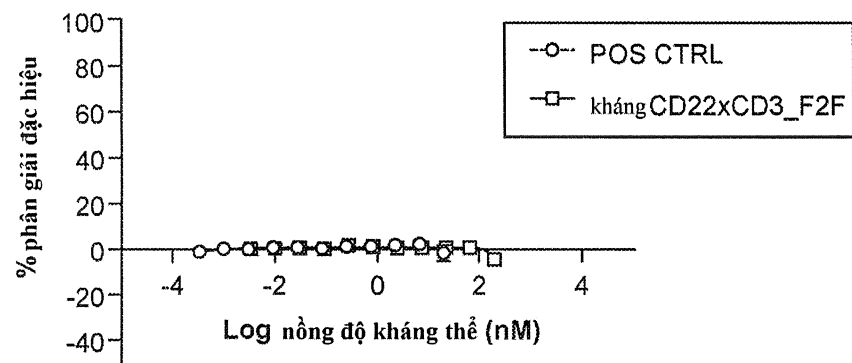


Fig. 4

6 / 21

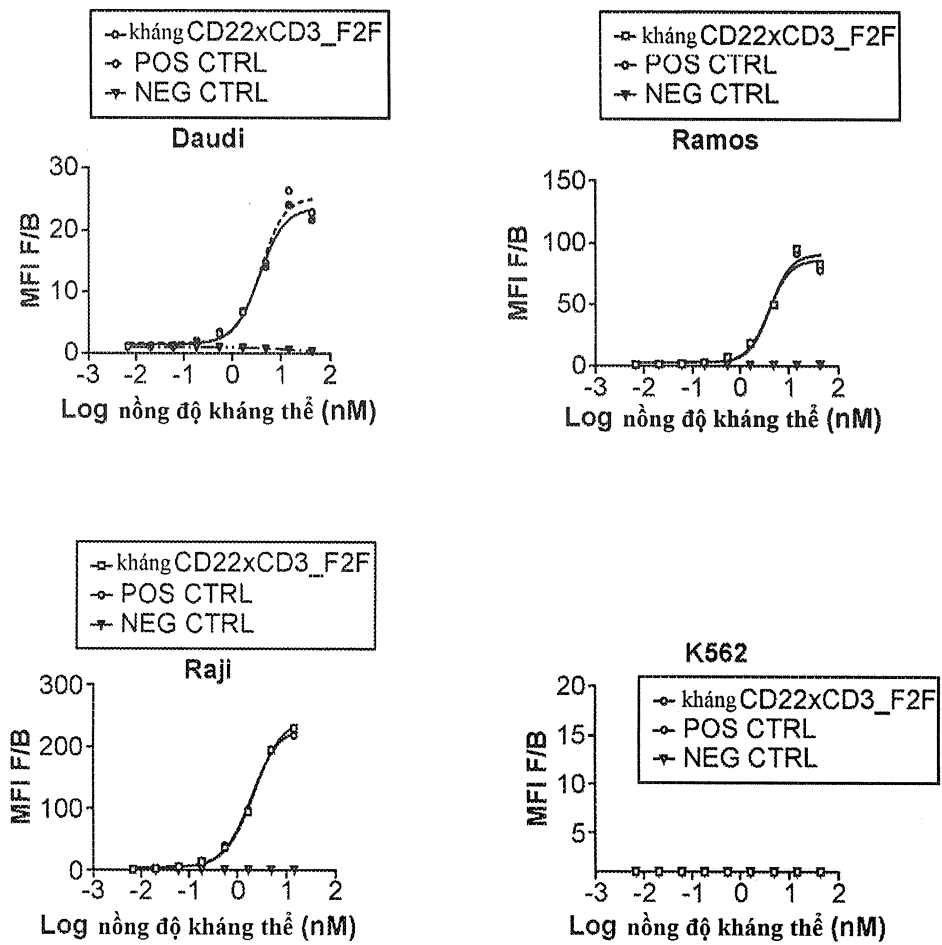


FIG. 5

7 / 21

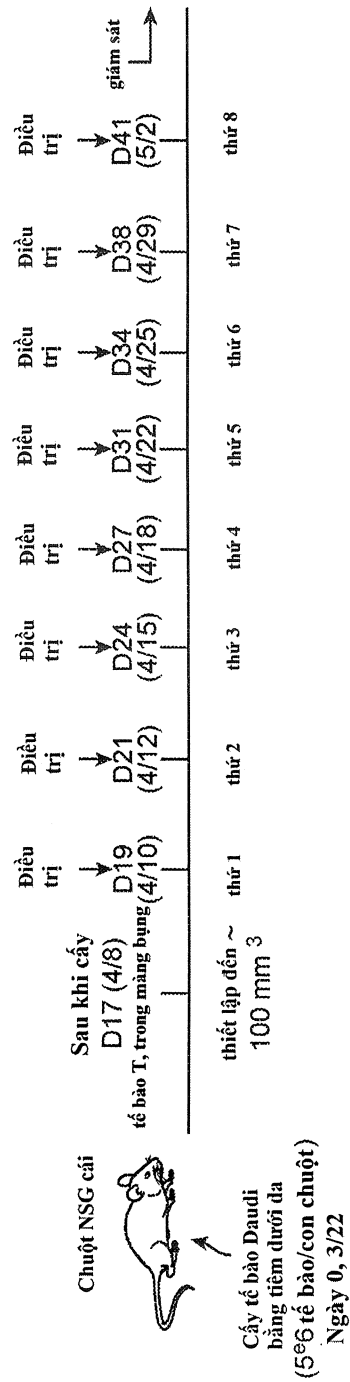


Fig. 6

8 / 21

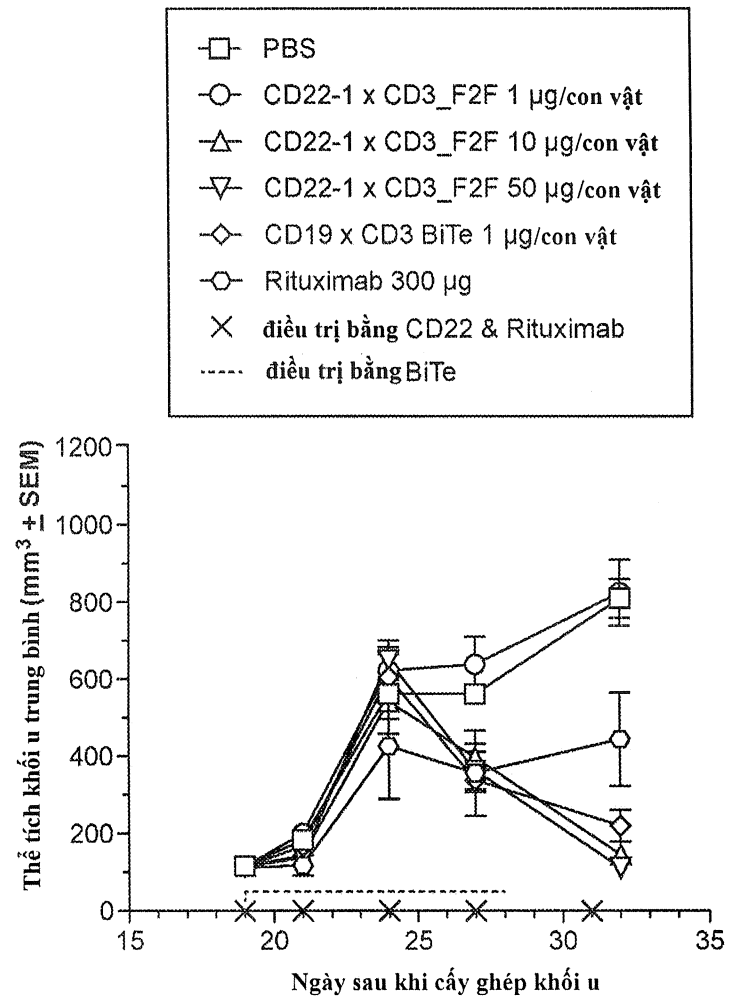


FIG. 7

9 / 21

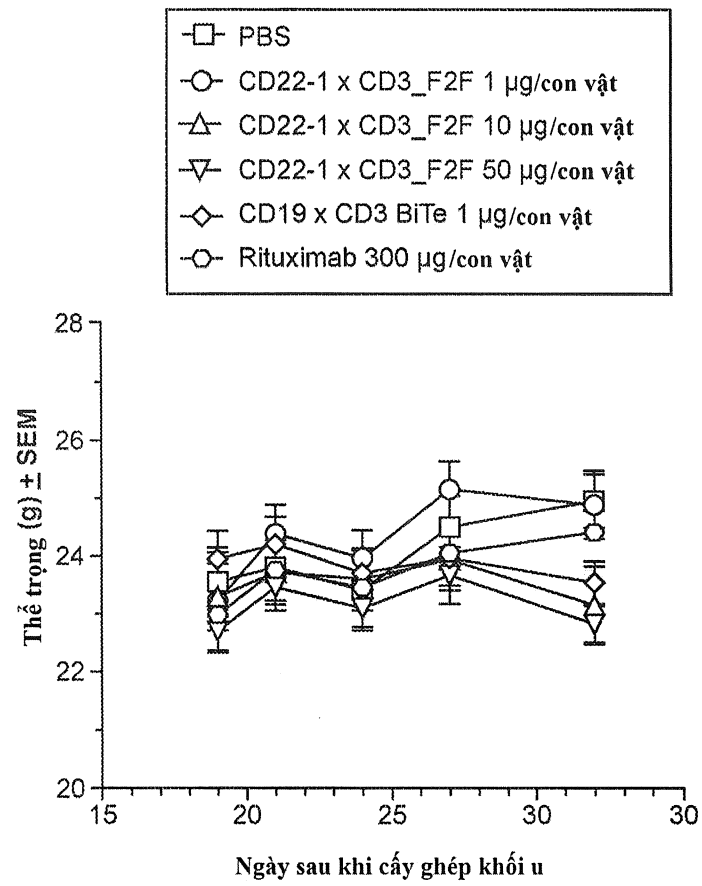


Fig. 8

10 / 21

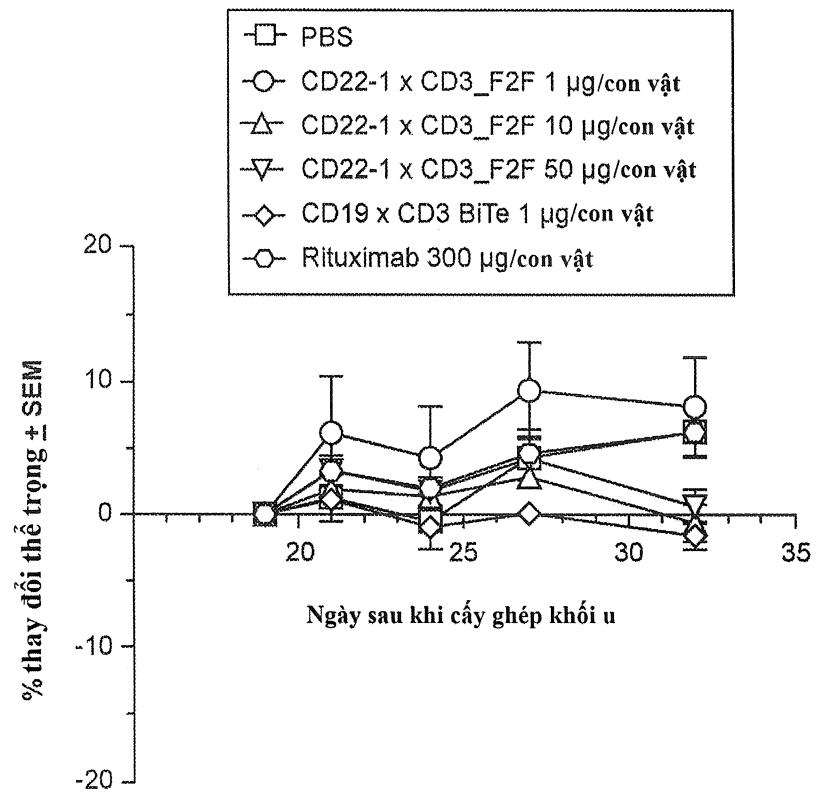


Fig. 9

11 / 21

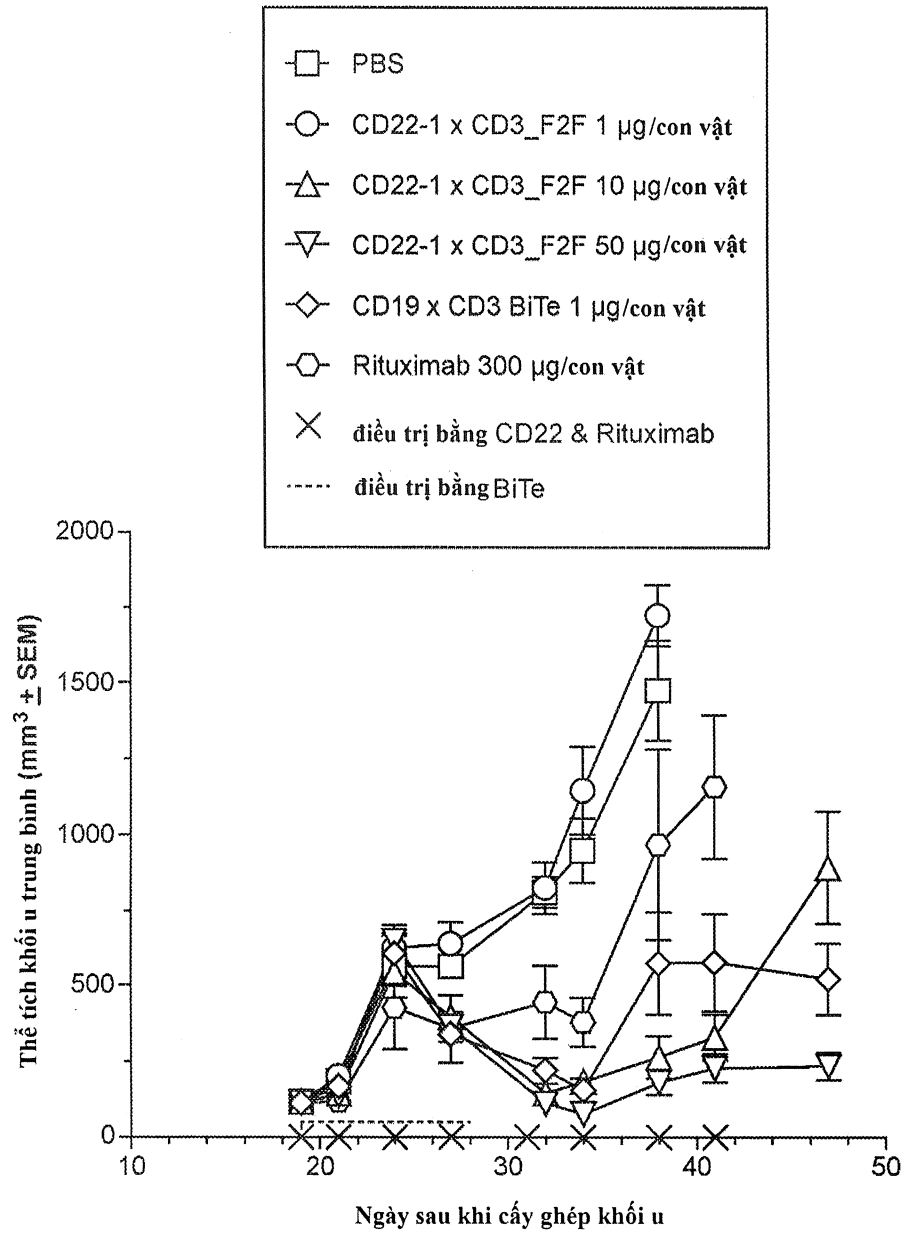


Fig. 10

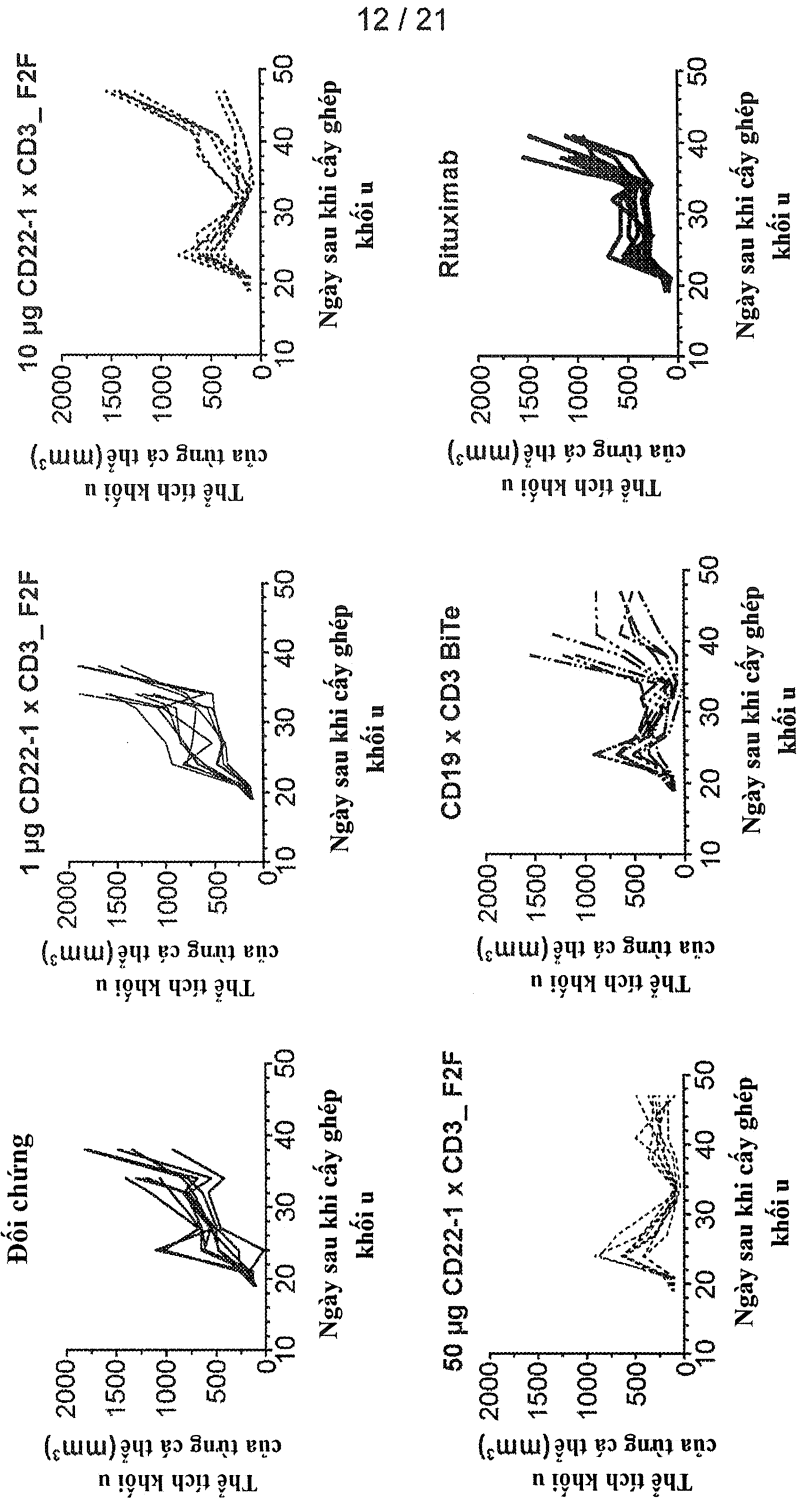


Fig. 11

13 / 21

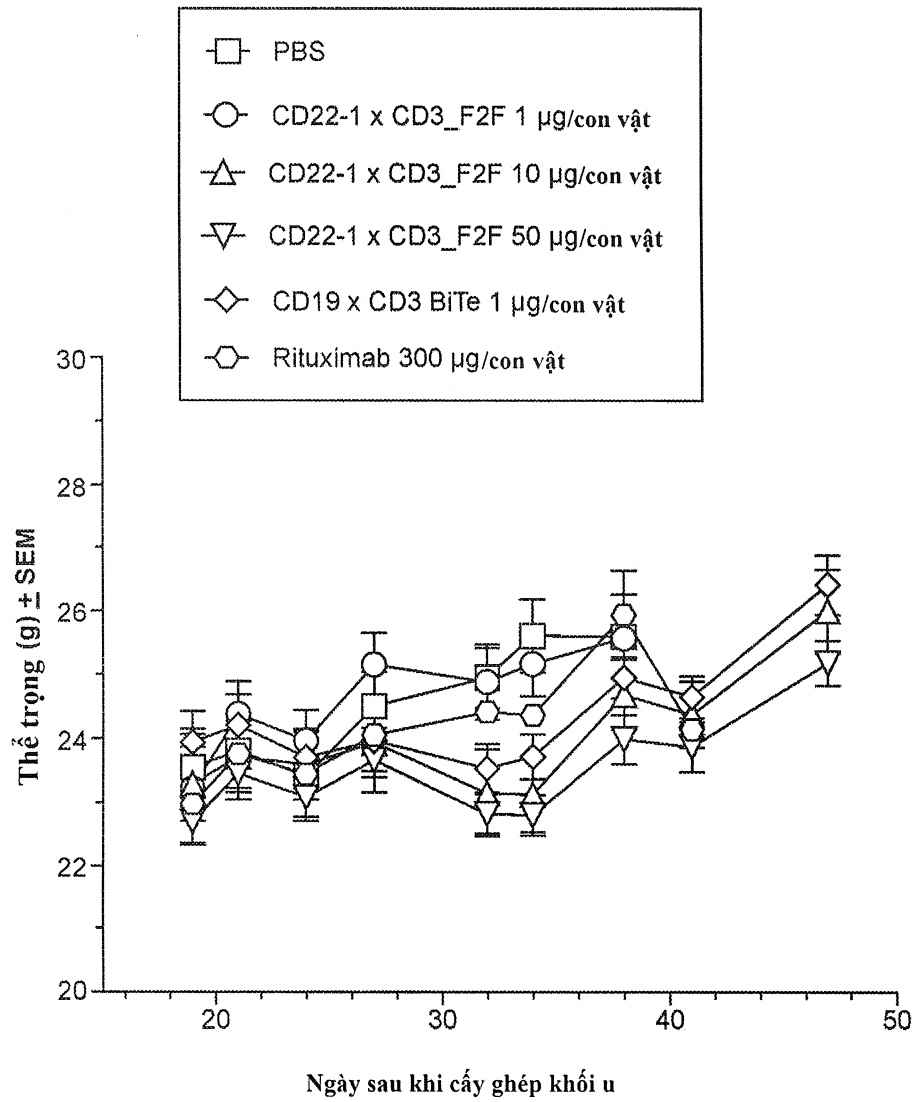


Fig. 12

14 / 21

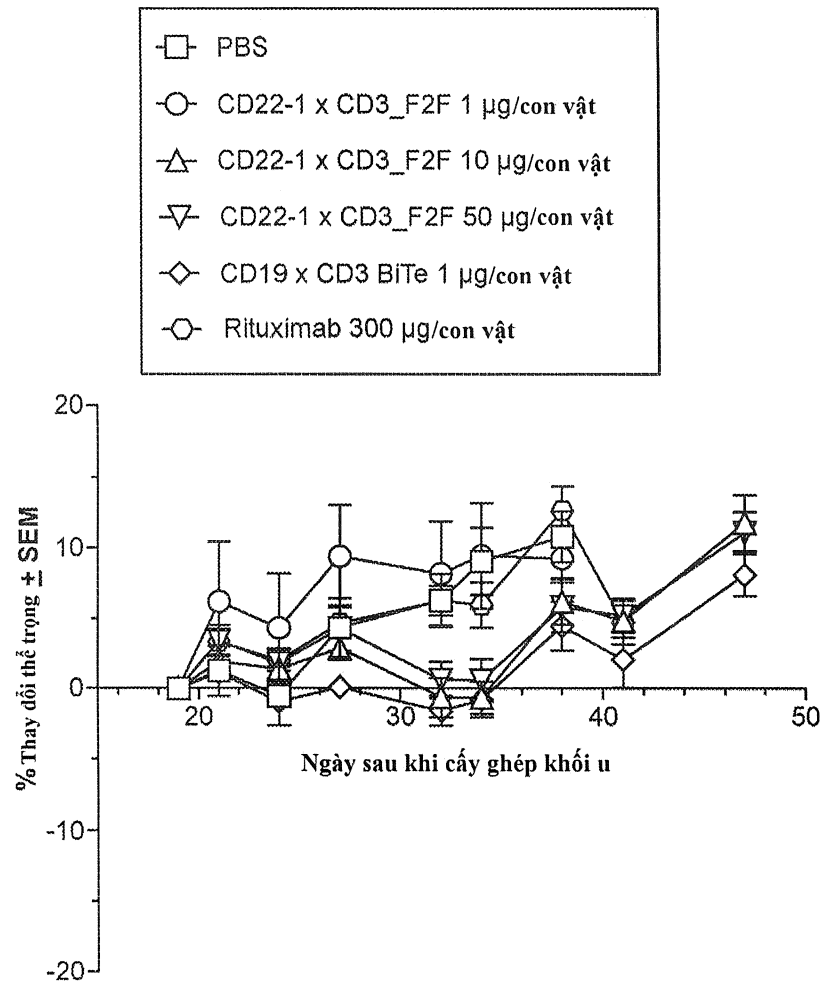


Fig. 13

15 / 21

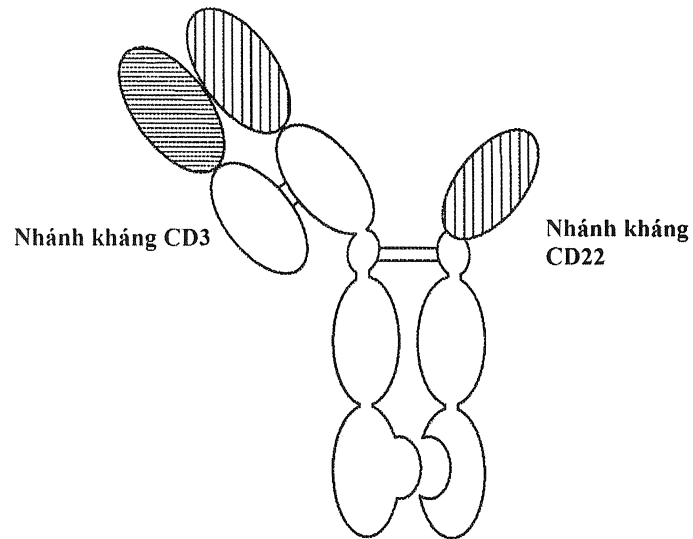


Fig. 14A

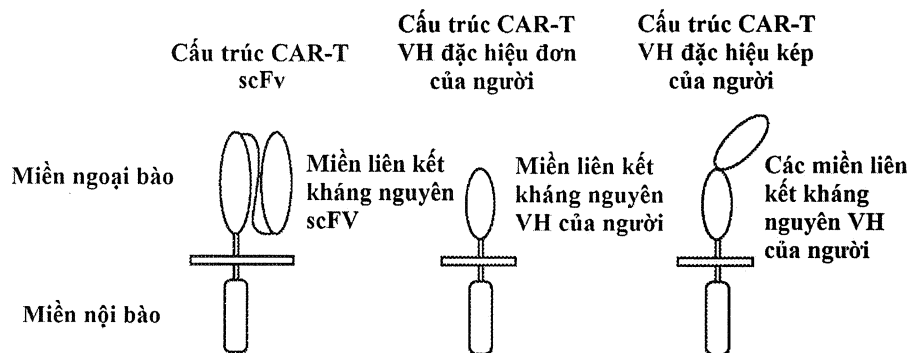
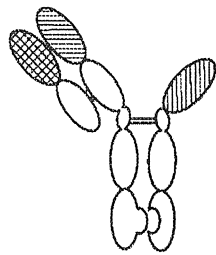


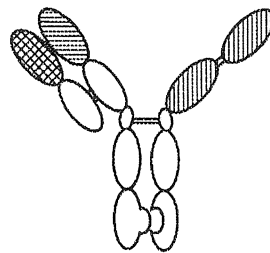
Fig. 14B

16 / 21



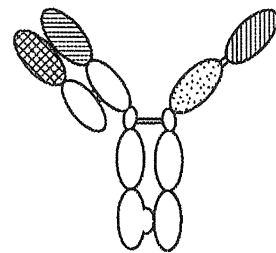
kháng CD3 x kháng CD22
hóa trị một, đơn đặc hiệu

Fig. 15A



kháng CD3 x kháng CD22
hóa trị hai, đơn đặc hiệu

Fig. 15B



kháng CD3 x kháng CD22
hóa trị hai, có hai paratop

Fig. 15C

17 / 21

số hiệu nhận diện dòng	KD (M)	Kđis (1/giây)	lên kết Daudi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFtgt
335161	2,66E-09	2,40E-04	811,0	208,0	5,2
335254	2,83E-09	2,45E-04	733,0	194,0	5,1
335260	3,17E-09	2,75E-04	725,0	185,0	5,1
335207	3,24E-09	2,94E-04	776,0	209,0	5,3
335151	3,77E-09	3,21E-04	861,0	222,0	5,3
335170	6,50E-09	3,40E-04	791,0	181,0	5,3
335176	4,62E-09	3,79E-04	848,0	212,0	5,3
335181	9,44E-09	4,43E-04	809,0	234,0	5,4
335244	5,07E-09	4,45E-04	752,0	198,0	5,2
335154	5,41E-09	4,46E-04	837,0	232,0	5,3
335201	5,19E-09	4,67E-04	761,0	199,0	5,5
335261	5,27E-09	5,10E-04	748,0	181,0	5,1
324510	6,42E-09	5,54E-04	690,0	172,0	5,2
335293	7,41E-09	5,57E-04	742,0	179,0	5,3
335203	6,80E-09	6,41E-04	729,0	194,0	5,3
335185	8,43E-09	6,47E-04	754,0	220,0	5,5
324317	8,48E-09	6,58E-04	709,0	173,0	5,2
335206	7,53E-09	6,90E-04	735,0	189,0	5,3
335245	7,44E-09	7,02E-04	742,0	192,0	5,4
335218	8,91E-09	7,05E-04	711,0	204,0	5,1
335160	8,51E-09	7,24E-04	750,0	218,0	5,2
335158	4,23E-08	8,01E-41	883,0	193,0	5,4
324508	1,25E-08	8,28E-04	839,0	162,0	5,2
335307	1,03E-08	1,02E-03	737,0	176,0	5,0
335301	1,26E-08	1,29E-03	716,0	166,0	5,0
335323	1,41E-08	1,30E-03	720,0	169,0	5,3
335271	2,16E-08	1,31E-03	711,0	147,0	5,2
335234	1,24E-08	1,37E-03	734,0	161,0	5,2
335182	2,24E-08	1,58E-03	750,0	192,0	5,3

Fig. 16

18 / 21

Số hiệu nhận diện dòng	KD (M)	Kdis (1/giây)	liên kết Daudi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFgt
335186	1,76E-08	1,72E-03	402,0	33,5	5,5
335233	1,90E-08	2,01E-03	697,0	166,0	5,3
335224	2,34E-08	2,07E-03	689,0	173,0	5,4
335210	6,25E-08	2,28E-03	735,0	159,0	5,2
335311	2,66E-09	2,77E-03	151,0	11,7	5,1
335159	1,61E-08	3,58E-03	532,0	61,7	5,4
335188	5,30E-08	4,12E-03	663,0	113,0	5,3
335274	2,36E-08	4,30E-03	414,0	26,0	5,1
335226	2,55E-08	4,37E-03	221,0	12,0	5,2
335333	2,24E-08	4,37E-03	372,0	21,2	5,0
335283	3,69E-08	4,57E-03	513,0	42,4	5,2
335297	2,88E-08	4,80E-03	107,0	12,3	5,2
335273	4,22E-08	4,87E-03	385,0	23,1	5,2
335187	1,28E-07	5,12E-03	531,0	60,7	6,0
335295	3,16E-08	5,21E-03	491,0	43,8	5,1
335220	4,82E-08	5,31E-03	322,0	18,4	5,4
335173	3,05E-08	5,43E-03	393,0	26,7	5,5
335219	9,06E-08	5,50E-03	590,0	76,2	5,2
335236	2,73E-08	5,62E-03	338,0	18,4	5,3
335266	3,85E-08	5,79E-03	411,0	29,2	5,1
335208	5,84E-08	5,93E-03	452,0	34,0	5,4
335195	1,50E-07	5,99E-03	420,0	33,0	5,4
335285	1,14E-07	6,07E-03	620,0	94,7	5,1
335150	1,41E-08	6,08E-03	86,3	8,8	5,2
335316	2,35E-08	6,62E-03	103,0	9,6	5,1
335189	3,60E-08	6,92E-03	410,0	28,6	5,3
335179	1,48E-07	8,91E-03	88,8	10,5	5,5
335230	7,52E-08	8,92E-03	47,1	7,8	5,3
335166	3,30E-08	9,15E-03	422,0	35,5	5,2
335242	7,97E-08	9,30E-03	136,0	11,3	5,2
335162	9,96E-08	9,41E-03	23,3	9,1	5,2

Fig. 16 (Tiếp túc 1)

Số hiệu nhận diện dòng	KD (M)	Kdis (1/giây)	liên kết Dandi	CHO_cyCD22	CHO_cyOFFgt
335171	8,45E-08	1,24E-02	471,0	39,0	5,4
335232	2,46E-08	1,83E-02	288,0	42,5	5,3
335263	2,58E-06	3,85E-02	30,0	8,2	5,2

Fig. 16 (Tiếp tục 2)

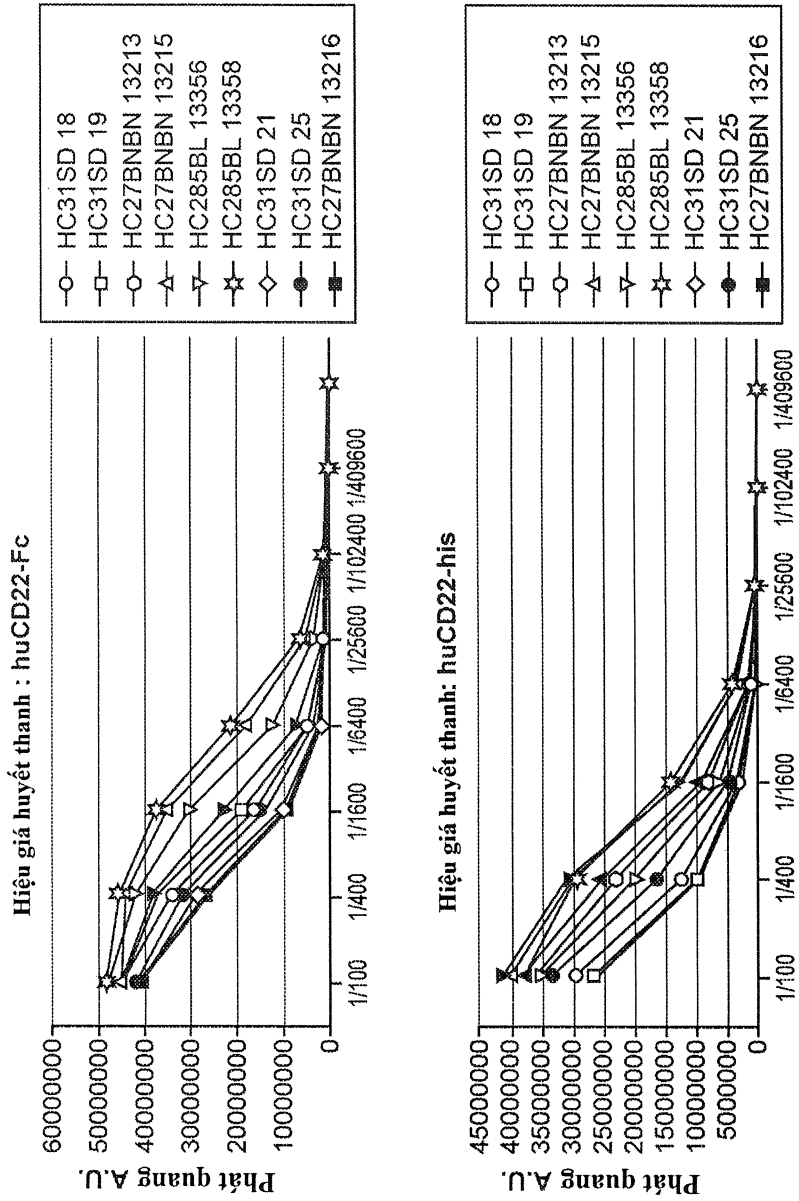


Fig. 17

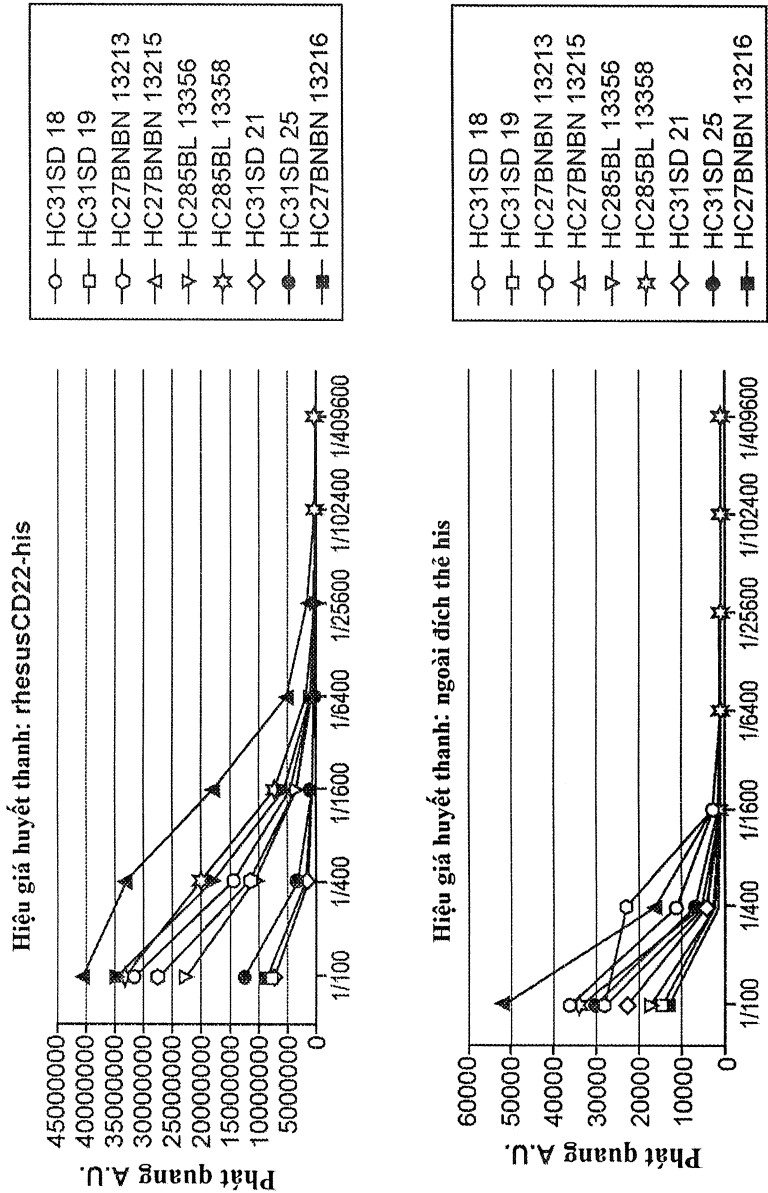


Fig. 17 (Tiếp tục)

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> TENEOBIO, INC.

<120> KHÁNG THỂ ĐA ĐẶC HIỆU BAO GỒM ĐƠN VỊ LIÊN KẾT THỨ NHẤT CÓ ÁI LỰC LIÊN KẾT VỚI CD22 VÀ ĐƠN VỊ LIÊN KẾT THỨ HAI CÓ ÁI LỰC LIÊN KẾT VỚI CD3, VÀ CHẾ PHẨM DƯỢC BAO GỒM KHÁNG THỂ ĐA ĐẶC HIỆU NÀY

<130> TNO-0017-WO

<140> PCT/US2020/037566

<141> 12-06-2020

<150> 62/861,708

<151> 14-06-2019

<160> 107

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 1

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr

1 5 10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 2

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 3

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 4

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 5

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr

1

5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 6

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr

1

5

10

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 9

Gly Gly Ser Ile Ile Ser Ser Ser Tyr Tyr

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 10

Gly Gly Ser Ile Asn Asp Asn Ser His Tyr

1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 11

Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr

1

5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 12

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr

1

5

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 13

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1

5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 14

Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr

1

5

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 15

Val Tyr Tyr Thr Gly Ala Thr

1

5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 16

Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

1

5

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 17

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala

1

5

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 18

Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 19

Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 20

Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 21

Ala Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 22

Lys Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 23

Ala Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser

1 5 10

<210> 24

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 24

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 25

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 25

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 27

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 28

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 29

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 29

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 30

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 30

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 31

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

25

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 32

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 33

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 33

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 34

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 34

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 35

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 36

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 37

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 37

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 38

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 38

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 39

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 39

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 40

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 41

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 41

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60
Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 42

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 43

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 44

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

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

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 45

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 46

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 46

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 47

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 47

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 48

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 48

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg His Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 49

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 49

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

53

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 50

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 50

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 51

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 51

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 52

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 53

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 54

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 54

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 55

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 55

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 56

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 56

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 57

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 57

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 58

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 58

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 59

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 59

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 60

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 60

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 61

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 61

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 62

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 62

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

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

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

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 63

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

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

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 64

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 64

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 65

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 65

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 66

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 67

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 67

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Ser Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 68

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 69
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 69

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 70

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 70

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 71

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 71

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 72

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

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

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Met Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 73

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 74

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Val Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Lys Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 75

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 75

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 76

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 76

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Val Tyr Tyr Thr Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 77

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 77

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Phe Arg His Pro Pro Gly Lys Gly Leu Asp

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 78

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 78

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Asp Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 79

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 79

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20

25

30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 80

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

101

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 81

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

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

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala Tyr Tyr His Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Ala Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 82

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 83

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 83

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

Asp Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Ser

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 84

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 84

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Asp Asn

20 25 30

Ser His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe

65

70

75

80

Ser Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85

90

95

Cys Thr Arg Glu Asp Ser Ser Ser Trp Arg Ser Arg Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 85

Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr Ala

1

5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 86

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile

1

5

<210> 87

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 87

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr

1 5 10 15

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 88

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1 5

<210> 89

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 89

Gly Ala Ser

1

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 90

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Trp Thr

1

5

<210> 91

<211> 142

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 91

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 92

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 92

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Trp

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 93

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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

117

<210> 94

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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> 95

<211> 330

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 95

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 Ala Ala 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 Gly Lys
325 330

<210> 96

<211> 327

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 96

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

125

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100

105

110

Glu Ala Ala 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> 97

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 97

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Trp

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100

105

110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115

120

125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130

135

140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 98

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 98

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115

120

125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130

135

140

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

145

150

155

160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165

170

175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180

185

190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

195

200

205

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

210

215

220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

225

230

235

240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

245

250

255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

260

265

270

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

275

280

285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

290

295

300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305

310

315

320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

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

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420

425

430

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

435

440

445

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 99

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 99

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20

25

30

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

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr
100 105 110

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

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225 230 235 240

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

245

250

255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

260

265

270

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

275

280

285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

290

295

300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305

310

315

320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

325

330

335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

340

345

350

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

355

360

365

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

370

375

380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

385

390

395

400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

405

410

415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420

425

430

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

435

440

445

Leu Ser Pro Gly Lys

450

<210> 100

<211> 450

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 100

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115

120

125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130

135

140

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

145

150

155

160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165

170

175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180

185

190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195

200

205

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

210

215

220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly

225

230

235

240

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

245

250

255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

260

265

270

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

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 101

<211> 450

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 101

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Arg Gly Tyr Gly Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Ala Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115

120

125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130

135

140

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

145

150

155

160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165

170

175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180

185

190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195

200

205

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

210

215

220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

225

230

235

240

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

245

250

255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

260

265

270

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

275

280

285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg

290

295

300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305

310

315

320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420

425

430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu

435

440

445

Gly Lys

450

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 102

Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 103

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

10

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (2)..(2)

<223> /thay thế="Gly"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (5)..(5)

<223> /thay thế="Thr" hoặc "Ile" hoặc "Asn"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (6)..(6)

<223> /thay thế="Asp"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (7)..(7)

<223> /thay thế="Ser" hoặc "Asn"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (8)..(8)

<223> /thay thế="Gly" hoặc "Ser"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (9)..(9)

<223> /thay thế="His"

<220>

<221> Vị trí

<222> (1)..(10)

<223> /ghi chú="Các gốc biến đổi được đưa ra trong trình tự này không có ưu tiên so với các gốc trong chú thích cho các vị trí của biến thể"

<400> 104

Gly Asp Ser Ile Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (1)..(1)

<223> /thay thế="Val"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (2)..(2)

<223> /thay thế="His"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (4)..(4)

<223> /thay thế="Thr"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (6)..(6)

<223> /thay thế="Val" hoặc "Ser"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (7)..(7)

<223> /thay thế="Ala"

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (1)..(7)

<223> /ghi chú="Các gốc biến đổi được đưa ra trong trình tự này không có ưu tiên so với các gốc trong chú thích cho các vị trí của biến thể"

<400> 105

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr

1

5

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (1)..(1)

<223> /thay thế="Ala" hoặc "Lys"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (3)..(3)

<223> /thay thế="Glu"

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (7)..(7)

<223> /thay thế="Ser"

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (1)..(10)

<223> /ghi chú=" Các gốc biến đổi được đưa ra trong trình tự này không có ưu tiên so với các gốc trong chú thích cho các vị trí của biến thể"

<400> 106

Thr Arg Asp Asp Ser Ser Asn Trp Arg Ser

1

5

10

<210> 107

<211> 50

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả Trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<220>

<221> VỊ TRÍ

<222> (1)..(50)

<223> /ghi chú="Trình tự này có thể bao gồm 1-10 đơn vị lặp 'Gly Gly Gly Gly Ser'"

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Xem phần mô tả đã nộp đối với sự mô tả chi tiếp các đột biến thể và các phương án ưu tiên"

<400> 107

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Ser

50