



(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)



1-0050156

(51)^{2020.01} C07K 16/22

(13) B

(21) 1-2022-02355

(22) 16/09/2020

(86) PCT/US2020/050973 16/09/2020

(87) WO/2021/055408 25/03/2021

(30) 62/900,927 16/09/2019 US

(45) 25/08/2025 449

(43) 25/10/2022 415A

(73) OPSIDIO, LLC (US)

P.O. Box 802, Bryn Mawr, Pennsylvania 19010, United States

(72) PHILLIPS, Martin (US).

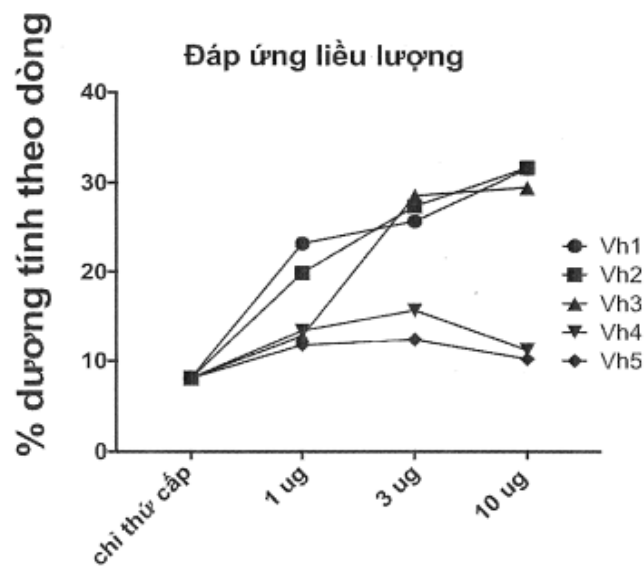
(74) CÔNG TY TRÁCH NHIỆM HỮU HẠN TƯ VẤN ĐẦU TƯ VÀ SỞ HỮU TRÍ TUỆ
INTERFIVE (INTERFIVE CO., LTD)

(54) KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI YẾU TỐ TẾ BÀO GỐC

(21) 1-2022-02355

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng mà liên kết với Yếu Tố Tế Bào Gốc (Stem Cell Factor - SCF). Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng liên kết đặc hiệu với SCF248 và phương pháp tạo ra các kháng thể này và mảnh của chúng.

Hình 11C



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể liên kết đặc hiệu với Yếu Tố Tế Bào Gốc (Stem Cell Factor - SCF).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh viêm là nguyên nhân chính của tỉ lệ mắc bệnh và tỉ lệ tử vong trên toàn thế giới. Một số kiểu viêm mãn tính có thể dẫn đến xơ hóa, là sự tạo thành hoặc phát triển của mô liên kết sợi quá mức trong cơ quan hoặc mô dưới dạng quy trình sửa chữa hoặc phản ứng, trái ngược với sự tạo thành của mô sợi dưới dạng thành phần cấu tạo bình thường của cơ quan hoặc mô. Sự viêm mãn tính cũng như là xơ hóa có thể tác động đến gần như tất cả hệ thống mô và cơ quan, và việc tái tạo mô sợi có thể ảnh hưởng đến sự di căn ung thư và làm tăng tốc sự thải bỏ mảnh ghép mãn tính ở người nhận cấy ghép.

Yếu tố tế bào gốc (SCF) và thụ thể c-Kit của nó là các yếu tố quan trọng để duy trì sự viêm mãn tính và trong bệnh xơ hóa (El-Koraie, và đồng tác giả, *Kidney Int.* 60: 167 (2001); Powell, và đồng tác giả, *Am. J. Physiol.* 289: G2 (2005); El Kossi, và đồng tác giả, *Am. J. Kidney Dis.* 41: 785 (2003); Powell, và đồng tác giả, *Am. J. Physiol.* 277: C183 (1999) Ding và đồng tác giả *J Pathol.* 2013 Jun;230(2):205-14., Berlin và đồng tác giả *Lab Invest.* 2006 Jun;86(6):557-65, Rasky và đồng tác giả *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2020 Jan 1;318(1):L200-L211). c-Kit là tyrosin kinaza thụ thể kiểu III mà có mặt trong nhiều loại tế bào (Orr-Urtreger và đồng tác giả, *Development* 109: 911 (1990). Các tế bào miễn dịch chẳng hạn như tế bào mast, bạch cầu ưa axit, và tế bào dòng lympho bẩm sinh 2 và 3 (ILC2 và ILC3) đều là tế bào c-Kit⁺ mà có thể gây ra quy trình viêm mãn tính, tùy thuộc vào bệnh và cơ quan tham gia. Khi bắt đầu đáp ứng viêm, nhiều chất trung gian, bao gồm SCF, hoạt hóa tế bào miễn dịch c-Kit⁺, mà đến lượt nó sản xuất xytokin mà làm cho nguyên bào sợi cơ trở thành nguyên bào sợi cơ đã hoạt hóa. Nguyên bào sợi cơ tiết ra protein nền ngoại bào, collagen, và fibronectin, dẫn đến xơ hóa mô. Nguyên bào sợi cơ đã hoạt hóa, biểu mô đã hoạt hóa, nội mạc, đại thực bào, bạch cầu ưa axit, tế bào mast, bạch cầu đơn nhân, và các tế bào khác cũng biểu hiện SCF trên bề mặt tế bào, mà hoạt hóa nhiều tế bào miễn dịch c-Kit⁺ hơn, dẫn đến nhiều sự giải phóng xytokin và duy trì sự viêm.

Có nhu cầu trong lĩnh vực về việc điều trị hiệu quả hơn và đặc hiệu hơn đối với các bệnh viêm. Sáng chế hướng đến nhu cầu này và các nhu cầu khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với yếu tố tế bào gốc (SCF). Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng liên kết đặc hiệu với đồng phân SCF SCF248. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa vùng xác định tính bổ sung (CDR) chuỗi nặng, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt có chứa SEQ ID NO: 1, 2, và 3. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa CDR chuỗi nhẹ, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nhẹ lần lượt có chứa SEQ ID NO: 4, 5, và 6. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt có chứa SEQ ID NO: 1, 37, và 3. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có chứa độ tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, và 12. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ có chứa độ tương đồng ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, và 17. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, và 12, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, và 17.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 7 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 8 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 9 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 10 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi

chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 11 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 12 và trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng được làm cho giống người. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng. Theo một số phương án, kháng thể có chứa miền IgG1 người hoặc miền IgG4 người. Theo một số phương án, kháng thể là mảnh liên kết kháng nguyên, trong đó mảnh được chọn từ Fab, F(ab')₂, Fab', scFv, và kháng thể đơn miền (sdAb).

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng phong bế sự tương tác giữa SCF (ví dụ như SCF248) và c-Kit. Theo một số phương án, kháng thể liên kết đặc hiệu với SCF248. Theo một số phương án, kháng thể không liên kết với SCF220. Theo một số phương án, kháng thể ngăn chặn sự tương tác của SCF248 và c-kit bằng cách gây ra sự nội tại hóa của SCF, làm nó không có sẵn trên bề mặt tế bào.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm có chứa kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo một số phương án, được phẩm có chứa chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic được phân lập mã hóa cho kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vector biểu hiện có chứa axit nucleic mã hóa cho kháng thể hoặc mảnh của chúng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào chủ tái tổ hợp có chứa vector biểu hiện.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể mà liên kết đặc hiệu với đồng phân yếu tố tế bào gốc 248 (SCF248), phương pháp này bao gồm bước gây miễn dịch động vật chủ với peptit có chứa SEQ ID NO: 30 (ASSLRNDSSSSNRKAKNPPGD) hoặc mảnh của chúng, và thu lấy kháng thể từ động vật chủ đã được gây miễn dịch. Theo một số phương án, động vật chủ không phải người. Theo một số phương án, mảnh của SEQ ID NO: 30 có chứa ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, ít nhất 18, ít nhất 19, hoặc 20 axit amin liền kề của SEQ ID NO: 30. Theo một số phương án, mảnh của SEQ ID NO: 30 có chứa 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20 axit amin liền kề của SEQ ID NO: 30. Theo một số phương án,

axit amin đầu tận cùng N của mảnh của SEQ ID NO: 30 là alanin tại vị trí 1 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 30. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước gây miễn dịch động vật chủ với peptit gồm có SEQ ID NO: 30. Theo một số phương án, kháng thể từ động vật chủ đã được gây miễn dịch được thu từ tế bào miễn dịch được phân lập từ động vật chủ. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao gồm bước tạo ra tế bào lai bằng cách sử dụng tế bào miễn dịch. Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào lai mà sản xuất kháng thể đơn dòng như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh của chúng mà liên kết đặc hiệu với SCF248, trong đó kháng thể hoặc mảnh của chúng liên kết với epitop có chứa ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, hoặc ít nhất 13 axit amin liên kề của SEQ ID NO: 33, trong đó kháng thể ức chế sự tương tác của SCF248 với c-Kit. Theo các phương án khác, epitop có chứa SEQ ID NO: 33 hoặc SEQ ID NO: 36. Theo các phương án khác nữa, epitop gồm có SEQ ID NO: 33 hoặc SEQ ID NO: 36.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp ức chế sự tương tác giữa SCF và c-Kit. c-Kit được biểu hiện trên tế bào miễn dịch, tế bào gốc tạo máu, và một số tế bào cấu trúc. Phôi tử SCF248 của c-Kit có thể được điều hòa tăng trên nguyên bào sợi cơ, biểu mô đã hoạt hóa, nội mạc, đại thực bào, bạch cầu ưa axit, tế bào mast, bạch cầu đơn nhân, và các tế bào khác. Theo một số phương án, hợp phần và phương pháp này ức chế đặc hiệu sự tương tác giữa SCF248 và c-Kit. Ví dụ như, theo một số phương án, hợp phần và phương pháp này ức chế đặc hiệu sự tương tác giữa SCF248 trên nguyên bào sợi cơ và c-Kit trên tế bào miễn dịch. Ví dụ khác là, theo một số phương án, hợp phần và phương pháp được đề xuất ở đây ức chế đặc hiệu sự tương tác giữa SCF248 trên nguyên bào sợi cơ, biểu mô đã hoạt hóa, nội mạc, đại thực bào, bạch cầu ưa axit, tế bào mast, và/hoặc bạch cầu đơn nhân; với c-Kit trên tế bào miễn dịch và/hoặc tế bào cấu trúc. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước cho SCF248 trên nguyên bào sợi cơ tiếp xúc với kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây phong bế liên kết của SCF248 với c-Kit. Theo một số phương án, việc phong bế là thông qua việc cản trở không gian. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây nội tại hóa SCF248.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế viêm ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng kháng thể hoặc mảnh

của chúng được đề xuất ở đây. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế bệnh viêm ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo các phương án khác, bệnh viêm là bệnh viêm mãn tính. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị sự viêm và/hoặc bệnh viêm mãn tính ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế xơ hóa ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh xơ hóa ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng kháng thể hoặc mảnh của chúng được đề xuất ở đây. Theo các phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dùng một hoặc nhiều liệu pháp và/hoặc tác nhân trị liệu khác.

Theo một số phương án, bệnh viêm hoặc bệnh xơ hóa được chọn từ nhóm gồm có chứng mề đay, viêm da cơ địa, pemphigut bong nước, xơ cứng bì, xơ cứng hệ thống, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis - NASH), viêm đường mật xơ cứng nguyên phát, xơ gan, xơ hóa phổi (ví dụ như, xơ hóa phổi vô căn (idiopathic pulmonary fibrosis - IPF), xơ cứng bì phổi), bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (chronic obstructive pulmonary disease - COPD), hội chứng suy hô hấp cấp tính (acute respiratory distress syndrome - ARDS), bệnh xơ nang, bệnh xơ hóa quanh phế quản, viêm phổi quá mẫn, bệnh hen, phổi nhiễm độc bleomycin, xơ hóa màng trong tim, chứng đau xơ cơ, viêm thực quản tăng bạch cầu ưa axit, xơ hóa do bức xạ, viêm khớp dạng thấp, và bệnh viêm ruột.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 đưa ra sơ đồ tổng quan của tiến trình tổn thương mô/bệnh viêm mô.

Hình 2 thể hiện cơ chế ví dụ của kháng thể kháng SCF248 theo sáng chế, 5H10. Kháng thể 5H10 được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng “OpSCF”.

Hình 3 thể hiện các đồng phân của SCF, SCF220 và SCF 248; và miền ngoại bào được phân cắt monome, SCF165. SCF165 được giải phóng khi phân cắt SCF248 tại vị trí phân cắt của nó ở trong vùng Exon 6.

Hình 4A là bộ đường tần suất thể hiện sự liên kết của kháng thể 5H10 chuột với các tế bào đối chứng mà không biểu hiện SCF (ô bên trái), các tế bào mà biểu hiện SCF220 nhưng không biểu hiện SCF248 (ô giữa), và các tế bào mà biểu hiện SCF248 nhưng không biểu hiện SCF220 (ô bên phải).

Hình 4B thể hiện sự liên kết của kháng thể 5H10 chuột với miền ngoại bào (ECD) SCF đã phân cắt có 165 axit amin so với ECD SCF có 194 axit amin hoàn chỉnh.

Hình 5 thể hiện cường độ phát huỳnh quang trung bình (mean fluorescence intensity - MFI) như được đo bằng cách đếm tế bào theo dòng sau bước cho nguyên bào sợi cơ IPF người được nuôi cấy tiếp xúc với các kháng thể 2G8 được gắn nhãn đỏ pHrodo, 5H10, hoặc IgG đối chứng.

Hình 6 thể hiện sự hoạt hóa của con đường P13K/AKT và con đường MEK/ERK của việc truyền tín hiệu c-kit sau bước cho bạch cầu ưa axit tiếp xúc với tế bào biểu hiện SCF248 trong sự có mặt của kháng thể 5H10 hoặc đối chứng IgG. Kháng thể 5H10 làm giảm đáng kể sự hoạt hóa của cả hai con đường.

Hình 7A – Hình 7B thể hiện sự liên kết bằng cách đếm tế bào theo dòng của các kháng thể 2G8 chuột và 5H10 chuột với tế bào cấy chuyển sớm (Hình 7A) và muộn (Hình 7B) SI/SI4 hSCF248 (ATCC® CRL2454™).

Hình 8A – Hình 8B thể hiện sự liên kết của 2G8 chuột và 5H10 chuột với tế bào SI/SI4 hSCF220 (ATCC® CRL2453™) (Hình 8A) và tế bào SI/SI4 hSCF248 (Hình 8B) khi cấy chuyển sớm và với tế bào được xử lý hygromycin B.

Hình 9A – Hình 9B thể hiện sự liên kết của các biến thể được làm cho giống người 2G8 ở các nồng độ kháng thể khác nhau bằng cách đếm tế bào theo dòng đối với tế bào SI/SI4 hSCF220 (Hình 9A) và tế bào SI/SI4 hSCF248 (Hình 9B).

Hình 10A – Hình 10B thể hiện sự liên kết của các biến thể được làm cho giống người 5H10 ở các nồng độ kháng thể khác nhau bằng cách đếm tế bào theo dòng đối với tế bào SI/SI4 hSCF248 (Hình 10A) và tế bào SI/SI4 hSCF220 (Hình 10B).

Hình 11A – Hình 11D thể hiện sự liên kết của các biến thể được làm cho giống người 2G8 (Hình 11A) và các biến thể được làm cho giống người 5H10 (Hình 11B, 11C, 11D) ở các nồng độ kháng thể khác nhau bằng cách đếm tế bào theo dòng đối với tế bào SI/SI4 hSCF248. Trên Hình 11C, VH được chỉ ra được bắt cặp với VK3. Trên Hình 11D, kháng thể 5H10 được thể hiện là VH1/VK3.

Hình 12A-12C thể hiện sự thay đổi về hàm lượng mARN của CCL11 (Hình 12A), Collagen 1A1 (Hình 12B), fibronectin (Hình 12C), hoặc collagen 3 (Hình 12D) sau khi ủ trước nguyên bào sợi cơ IPF người (Mfb) với đối chứng dương (kháng thể không liên quan) hoặc kháng thể được chỉ ra là dưới mỗi cột trong hình vẽ. Kháng thể bố mẹ chuột được chỉ ra dưới dạng “5H10” trên hình vẽ; các kháng thể 5H10 được làm cho giống người VH1/VK3, VH2/VK3, VH3/VK3, VH4/VK3, và VH5/VK3 cũng được thử nghiệm như được thể hiện. Nồng độ kháng thể được thử nghiệm là 1 µg/ml hoặc 10 µg/ml.

Hình 13 thể hiện sự nội tại hóa của kháng thể 5H10 chuột được gắn nhãn đo pHrodo, kháng thể khảm VH0/VK0, và các biến thể VH1/VK3 và VH2/VK3 được làm cho giống người. Các mũi tên chỉ ra các tế bào ví dụ thể hiện kháng thể được nội tại hóa.

Hình 14 thể hiện tác dụng của biến thể được làm cho giống người 5H10 lên khả năng sống PBMC.

Hình 15A – Hình 15H thể hiện đáp ứng tế bào T CD4+ gây ra bởi biến thể được làm cho giống người 5H10 được chỉ ra trong thử nghiệm tăng sinh tế bào T trong khoảng thời gian EpiScreen™. Exenatit và KLH, được thể hiện lần lượt trên các Hình 15G và 15H, là các đối chứng dương.

Hình 16 thể hiện phân tích độ biến thiên (ANOVA) của thử nghiệm tăng sinh tế bào T trong khoảng thời gian EpiScreen™.

Hình 17 thể hiện mô học phổi của động vật đối chứng bleomycin (ô bên trái) và động vật được điều trị bằng bleomycin và 5H10 (20 mg/kg). Trên hình vẽ này, 5

Hình 18 thể hiện sự giảm đi của hydroxyprolin phổi ở động vật được điều trị bằng bleomycin và đối chứng IgG và động vật được điều trị bằng bleomycin và 5H10 (20 mg/kg; được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng kháng SCF248).

Hình 19 thể hiện khối lượng cơ thể dưới dạng % khối lượng được đo vào ngày 0, theo thời gian ở chuột nhắt nguyên bản, chuột nhắt được điều trị bằng bleomycin để gây ra xơ hóa phổi, và kháng thể Ig đối chứng (Bleo + cIg), và chuột nhắt được điều trị bằng bleomycin và kháng thể 5H10 chuột (được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng kháng SCF248). Kháng thể được dùng tại thời điểm được chỉ ra.

Hình 20 thể hiện sự giảm đi của mARN đối với xytokin và chỉ thị của sự hoạt hóa nguyên bào sợi cơ (TGFB, CCL2, Colla1, Fibronectin (fn), actin cơ trơn (acta2), và yếu tố tế bào gốc (kitlg)) ở động vật được điều trị bằng bleomycin và đối chứng IgG và động

vật được điều trị bằng bleomycin và 5H10 (20 mg/kg; được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng kháng SCF248).

Hình 21 thể hiện sự giảm đi của tế bào mast phổi, bạch cầu ưa axit và tế bào lympho ILC2 ở động vật được điều trị bằng bleomycin và đối chứng IgG và động vật được điều trị bằng bleomycin và 5H10 (20 mg/kg; được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng kháng SCF248).

Hình 22 thể hiện rằng thử nghiệm chức năng phổi như được đo bằng thể tích thở ra gắng sức (ô bên trái), dòng thở ra gắng sức (ô giữa), và sự thay đổi về áp lực phổi (ô bên phải) được cải thiện đáng kể ở động vật được điều trị bằng bleomycin và 5H10 (20 mg/kg; được đề cập đến trong hình vẽ dưới dạng kháng SCF248) so với động vật được điều trị bằng bleomycin và đối chứng IgG.

Hình 23 thể hiện sơ đồ của thiết kế nghiên cứu trong mô hình bệnh hen dị ứng mãn tính *in vivo* được sử dụng để thử nghiệm kháng thể được làm cho giống người.

Hình 24A-24E đưa ra kết quả của việc điều trị bằng kháng thể 5H10 được làm cho giống người trong mô hình *in vivo* của bệnh hen dị ứng mãn tính. Hình 24A thể hiện rằng kháng lực đường thở như đo được được làm giảm đáng kể ở động vật được điều trị bằng VH1/VK3 so với đối chứng PBS. mARN IL-13 (Hình 24B), mARN Collagen 1 (Hình 24C), và mARN Collagen 3 (Hình 24D) trong mô phổi cũng được làm giảm ở động vật được điều trị bằng VH1/VK3 so với đối chứng mắc bệnh hen mãn tính (PBS). Hình 24E thể hiện rằng sự biểu hiện mARN SCF248 cũng được làm giảm ở động vật được điều trị bằng kháng thể 5H10 VH1/VK3 so với đối chứng PBS.

Hình 25A-25C thể hiện rằng kháng thể VH1/VK3 làm giảm hàm lượng mARN của protein dịch nhày Gob5 (Hình 25), IL-13 (Hình 25B), và IL-5 (Hình 25C), ở nồng độ bằng 1 mg/kg và 5 mg/kg *in vivo*.

Mô tả chi tiết sáng chế

Yếu tố tế bào gốc (SCF) là chất trung gian quan trọng của sự viêm cấp tính và mãn tính, bệnh xơ hóa, và bệnh tái tạo mô. Sự tương tác của SCF với c-Kit trên tế bào miễn dịch làm bắt đầu và duy trì sự viêm và xơ hóa. Sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp ức chế sự tương tác của SCF với c-Kit. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp ngăn chặn dạng viêm của SCF, SCF248, khỏi sự tương tác với c-Kit và do đó làm giảm và/hoặc ngăn chặn sự hoạt hóa của tế bào miễn dịch. Do đó, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị bệnh viêm mãn tính và xơ hóa và bệnh tái tạo mô.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp làm giảm sự tích lũy (ví dụ như, sự tăng sinh và/hoặc sự duy trì) của tế bào miễn dịch trong cơ quan hoặc mô. Ví dụ như, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp mà ngăn chặn SCF248 khỏi sự tương tác với c-Kit và do đó làm giảm và/hoặc ngăn chặn sự tích lũy của tế bào miễn dịch trong cơ quan hoặc mô. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp làm giảm và/hoặc ngăn chặn sự hoạt hóa và/hoặc sự tích lũy trong cơ quan hoặc mô của tế bào mast, bạch cầu ưa axit, tế bào dòng lympho bẩm sinh kiểu 2 (ILC2), và tế bào dòng lympho bẩm sinh kiểu 3 (ILC3).

Cụ thể là, sáng chế đề xuất kháng thể và mảnh của chúng mà liên kết đặc hiệu với SCF và phong bế hoặc ức chế sự tương tác của nó với c-Kit. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh được đề xuất ở đây liên kết với SCF và ức chế hoạt tính của tế bào c-Kit và c-Kit+. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể và mảnh của chúng mà liên kết đặc hiệu với SCF, cũng như là phương pháp chẩn đoán và điều trị có sử dụng chúng. Theo một khía cạnh, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây liên kết đặc hiệu với đồng phân SCF mà gây ra sự viêm, SCF248. Do đó, sáng chế đề xuất hợp phần và phương pháp đặc hiệu, hữu hiệu để ức chế sự viêm và xơ hóa và điều trị bệnh viêm mãn tính và bệnh xơ hóa.

Định nghĩa

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “kháng thể” dùng để chỉ protein liên kết có ít nhất một miền liên kết kháng nguyên. Kháng thể và mảnh của chúng theo sáng chế có thể là kháng thể hoàn chỉnh hoặc mảnh bất kỳ của chúng. Do đó, kháng thể và mảnh theo sáng chế bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh của chúng và biến thể kháng thể hoặc mảnh của chúng, cũng như là thể liên hợp miễn dịch. Các mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm mảnh Fab, mảnh Fab', mảnh F(ab')₂, dime Fab đặc hiệu kép (Fab₂), trime Fab đặc hiệu ba trong một (Fab₃), Fv, protein Fv đơn chuỗi (“scFv”), bis-scFv, (scFv)₂, minibody, diabody, triabody, tetrabody, protein Fv được làm ổn định disulfua (“dsFv”), kháng thể đơn miền (sdAb, nanobody), kháng thể chỉ có chuỗi nặng (ví dụ như, VHH lạc đà, nanobody lạc đà, NAR Ig cá mập), và các phần của kháng thể chiều dài đầy đủ chịu trách nhiệm về việc liên kết kháng nguyên. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng là kháng thể hoặc mảnh liên kết mà được nhận dạng và được tách và/hoặc được thu hồi từ thành phần của môi trường tự nhiên của nó.

Theo một số phương án, kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng là kháng thể được phân lập và mảnh của chúng, do đó, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, và axit nucleic mã hóa cho kháng thể và mảnh này, cũng như là hợp phần có chứa kháng thể được phân lập, mảnh, và axit nucleic này. Thuật ngữ “được phân lập” dùng để chỉ hợp chất được quan tâm (ví dụ như, kháng thể hoặc axit nucleic) mà được tách từ môi trường tự nhiên của nó. Sáng chế còn đề xuất được phẩm có chứa kháng thể được phân lập hoặc mảnh của chúng, hoặc axit nucleic mã hóa cho kháng thể hoặc mảnh này, và còn chứa một hoặc nhiều chất mang được dụng. Chất mang được dụng bao gồm, ví dụ như, tá dược, chất pha loãng, nguyên liệu bao nang, chất độn, chất đệm, hoặc các chất khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “có nguồn gốc” khi được sử dụng để chỉ phân tử hoặc polypeptit tương quan với kháng thể tham chiếu hoặc protein liên kết khác, có nghĩa là phân tử hoặc polypeptit mà đặc hiệu đối với, và có khả năng liên kết với, cùng epitop như kháng thể tham chiếu hoặc protein liên kết khác.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ “đặc hiệu đối với” có thể có nghĩa là kháng thể không liên kết với đích chỉ nhờ sự tương tác không đặc hiệu, và tính chất này có thể được xác định bằng cách so sánh với đối chứng isotyp hoặc dạng tương tự. Liên kết đặc hiệu không nhất thiết phải có, mặc dù nó có thể bao gồm, liên kết riêng biệt với đích đơn lẻ. Theo các phương án, kháng thể được đề xuất ở đây liên kết đặc hiệu với SCF248, và không liên kết SCF220.

Thuật ngữ “tế bào chủ” có nghĩa là tế bào mà được biến đổi, hoặc có khả năng đang được biến đổi, bằng trình tự axit nucleic và nhờ đó biểu hiện gen được quan tâm. Thuật ngữ này bao gồm con cháu của tế bào bố mẹ, dù con cháu có tương đồng hay không về hình thái hoặc ở cấu trúc di truyền với tế bào bố mẹ ban đầu, miễn là gen được quan tâm có mặt.

“Biến thể” của polypeptit (ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên, hoặc kháng thể) có chứa trình tự axit amin trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được cài xen vào, được làm khuyết từ và/hoặc được thế vào trình tự axit amin tương quan với trình tự polypeptit khác. Các biến thể bao gồm kháng thể và mảnh của chúng mà có phần trăm độ tương đồng được chỉ ra với kháng thể hoặc mảnh được đề xuất ở đây hoặc với kháng thể hoặc mảnh có trình tự ADN hoặc axit amin được chỉ ra.

Thuật ngữ “độ tương đồng” dùng để chỉ mối quan hệ giữa các trình tự của hai hoặc hơn hai phân tử polypeptit hoặc hai hoặc hơn hai phân tử axit nucleic, như xác định bằng cách sắp xếp thẳng hàng và so sánh các trình tự. “Phần trăm tương đồng,” “phần trăm đồng nhất,” “độ tương đồng trình tự,” hoặc “độ đồng nhất trình tự” và dạng tương tự có nghĩa là phần trăm của các gốc tương đồng giữa các axit amin hoặc các nucleotit trong các phân tử được so sánh và được tính dựa trên kích thước của phân tử nhỏ nhất trong số các phân tử đang được so sánh. Đối với các phép tính này, chỗ cách quãng trong sự sắp xếp thẳng hàng (nếu có) được tính đến bởi mô hình toán học hoặc chương trình máy tính cụ thể (tức là, “thuật toán”). Phương pháp mà có thể được sử dụng để tính độ tương đồng của các axit nucleic hoặc polypeptit được sắp xếp thẳng hàng bao gồm các phương pháp được mô tả trong Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; và Carillo và đồng tác giả, 1988, SIAM J. Applied Math. 48:1073. Trong việc tính phần trăm tương đồng, các trình tự được so sánh thường được sắp xếp thẳng hàng theo cách mà mang lại sự ăn khớp lớn nhất giữa các trình tự.

Thuật ngữ “chuỗi nhẹ” bao gồm chuỗi nhẹ chiều dài đầy đủ và các mảnh của chúng có trình tự vùng biến đổi đủ để mang lại tính đặc hiệu liên kết. Chuỗi nhẹ chiều dài đầy đủ bao gồm miền vùng biến đổi và miền vùng không đổi. Miền vùng biến đổi của chuỗi nhẹ ở đầu tận cùng amino của polypeptit. Chuỗi nhẹ bao gồm chuỗi kappa và chuỗi lambda.

Thuật ngữ “chuỗi nặng” bao gồm chuỗi nặng chiều dài đầy đủ và các mảnh của chúng có trình tự vùng biến đổi đủ để mang lại tính đặc hiệu liên kết. Chuỗi nặng chiều dài đầy đủ bao gồm miền vùng biến đổi, ba miền vùng không đổi, C_H1 , C_H2 , và C_H3 . Miền biến đổi chuỗi nặng ở đầu tận cùng amino của polypeptit, và miền C_H ở đầu tận cùng carboxyl, với CH_3 gần nhất với đầu tận cùng carboxy của polypeptit. Chuỗi nặng có thể thuộc isotíp bất kỳ, bao gồm IgG (bao gồm các kiểu phụ IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4), IgA (bao gồm các kiểu phụ IgA1 và IgA2), IgM và IgE. Thuật ngữ “isotíp” dùng để chỉ lớp kháng thể được mã hóa bằng gen vùng không đổi chuỗi nặng. Theo một số phương

án, kháng thể được đề xuất ở đây có chuỗi nặng IgG4, hoặc chuỗi nặng IgG4 có chứa đột biến axit amin nhất định. Ví dụ như, theo một số phương án, IgG4 có chứa đột biến tại vị trí 228 (sơ đồ đánh số EU, Kabat và đồng tác giả Sequence of proteins of immunologic interest, 5th ed Bethesda, MD, NIH 1991) để ức chế sự trao đổi nhánh Fab. Ví dụ như, theo một số phương án, chuỗi nặng IgG4 là chuỗi nặng IgG4 S228P. Theo một số phương án, chuỗi nặng có chứa một hoặc nhiều đột biến axit amin mà làm giảm sự liên kết với thụ thể Fc, và nhờ đó làm giảm hoặc loại bỏ chức năng tác động của kháng thể. Ví dụ như, chuỗi nặng có thể có chứa đột biến tại một hoặc nhiều vị trí 233, 234, 235, 236, 237, 265, 309, 331, và 409 (đánh số EU).

Thuật ngữ “vùng biến đổi” hoặc “miền biến đổi” dùng để chỉ một phần của chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể, thường bao gồm khoảng từ 120 đến 130 axit amin ở đầu tận cùng amino trong chuỗi nặng và khoảng từ 100 đến 110 axit amin ở đầu tận cùng amino trong chuỗi nhẹ. Theo các phương án nhất định, vùng biến đổi của các kháng thể khác nhau khác biệt lớn ở trình tự axit amin ngay cả giữa các kháng thể của cùng loài. Vùng biến đổi của kháng thể thường xác định tính đặc hiệu của kháng thể cụ thể đối với đích của nó. Thuật ngữ “đích,” như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ phân tử hoặc một phần của phân tử có khả năng được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, đích có thể có một hoặc nhiều epitop. Theo các phương án nhất định, đích là kháng nguyên. Việc sử dụng “kháng nguyên” trong cụm từ “protein liên kết kháng nguyên” đơn giản là chỉ ra rằng trình tự protein mà có chứa kháng nguyên có thể được liên kết bởi kháng thể. Trong ngữ cảnh này, không đòi hỏi rằng protein là lạ hoặc có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch.

Thuật ngữ “epitop” bao gồm yếu tố quyết định bất kỳ có khả năng được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên, chẳng hạn như kháng thể hoặc với thụ thể tế bào T. Epitop là vùng của kháng nguyên mà được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên mà nhắm đích kháng nguyên đó, và khi kháng nguyên là protein, bao gồm các axit amin cụ thể mà tiếp xúc trực tiếp với protein liên kết kháng nguyên. Thông thường nhất là, epitop nằm trên protein, nhưng trong một số trường hợp có thể nằm trên các loại phân tử khác, chẳng hạn như axit nucleic. Yếu tố quyết định epitop có thể bao gồm các nhóm bề mặt có hoạt tính hóa học của các phân tử chẳng hạn như axit amin, chuỗi bên đường, nhóm phosphoryl hoặc sulfonyl, và có thể có đặc điểm cấu trúc ba chiều đặc trưng, và/hoặc đặc điểm tích điện đặc trưng. Thông thường, kháng thể đặc hiệu đối với kháng nguyên đích

cụ thể sẽ nhận diện ưu tiên epitop trên kháng nguyên đích trong hỗn hợp phức của các protein và/hoặc các đại phân tử. Epitop kháng thể có thể là tuyến tính hoặc cấu hình. Theo các phương án, epitop được đề xuất ở đây là epitop tuyến tính.

Việc sử dụng danh từ số ít bao gồm cả nghĩa số nhiều trừ khi có chỉ dẫn cụ thể khác. Từ số ít “a” hoặc “an” có nghĩa là “ít nhất một” trừ khi có chỉ dẫn cụ thể khác. Việc sử dụng “hoặc” có nghĩa là “và/hoặc” trừ khi có chỉ dẫn khác. Nghĩa của cụm từ “ít nhất một” tương đương với nghĩa của cụm từ “một hoặc nhiều.” Ngoài ra, việc sử dụng của thuật ngữ “bao gồm,” cũng như là các dạng khác, chẳng hạn như “đã bao gồm,” không bị giới hạn. Ngoài ra, các thuật ngữ chẳng hạn như “phần tử” hoặc “thành phần” bao hàm cả các phần tử hoặc các thành phần có chứa một đơn vị và các phần tử hoặc các thành phần chứa nhiều đơn vị trừ khi được quy định cụ thể khác. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “khoảng” dùng để chỉ lượng nhiều hoặc ít hơn giá trị thông số được chỉ ra, ví dụ như cộng hoặc trừ năm hoặc mười phần trăm của chủ thể mà “khoảng” làm biến đổi, hoặc như người có trình độ trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận ra từ ngữ cảnh (ví dụ như, khoảng 50% của khoảng cách giữa các giá trị). Thuật ngữ “khoảng” cũng bao gồm giá trị được đề cập.

Yếu Tố Tế Bào Gốc

Ở người, có ít nhất hai dạng SCF, mà có cấu trúc và hoạt tính khác nhau. SCF220 hoạt động ở một vài chức năng nội cân bằng, bao gồm sự tạo máu và sự sinh tinh và được tìm thấy trong tủy xương, tinh hoàn, và các mô và cơ quan khác. SCF220 có thể phân cắt chậm và đôi khi được gọi là “SCF màng.” Ngược lại, SCF248 có thể phân cắt nhanh chóng và có chứa vị trí phân cắt trong exon 6, nằm giữa miền liên kết c-kit ở đầu tận cùng N và miền xuyên màng. SCF248 có thể được đề cập đến dưới dạng “SCF tan”. Exon 6 bị loại trừ khỏi SCF220 thông qua sự cắt nối thay thế, và do đó SCF220 thiếu vị trí phân cắt này. Miền ngoại bào, dạng monome (SCF165) là sản phẩm phân cắt và đóng vai trò làm chỉ thị sinh học trong huyết tương đối với các bệnh viêm mãn tính. Huyết tương cũng có thể chứa hàm lượng có thể phát hiện được của miền ngoại bào SCF mà đến từ SCF220, nhưng phần lớn của miền ngoại bào có thể phát hiện được được mong đợi là SCF165. SCF248 là đồng phân được tìm thấy trên nguyên bào sợi cơ, tế bào biểu mô đã hoạt hóa, và các tế bào khác, mà hoạt hóa tế bào miễn dịch trong khi viêm và góp phần vào sự duy trì của xơ hóa. Cụ thể là, SCF248 liên kết với c-Kit trên tế bào miễn dịch, làm bắt đầu việc sản xuất xytokin mà hoạt hóa nguyên bào sợi thành nguyên bào sợi

cơ, mà tiết ra protein nền ngoại bào, collagen, và fibronectin. Nguyên bào sợi cơ đã hoạt hóa cũng như là biểu mô đã hoạt hóa, nội mạc, đại thực bào, bạch cầu ưa axit, tế bào mast, bạch cầu đơn nhân, và các tế bào khác cũng biểu hiện SCF trên bề mặt tế bào, làm hoạt hóa nhiều tế bào miễn dịch c-Kit⁺ hơn, dẫn đến sự giải phóng xytokin và sự hoạt hóa miễn dịch và đáp ứng xơ hóa khác.

Kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ ở đây đặc hiệu đối với SCF. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng đặc hiệu đối với SCF người. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng đặc hiệu đối với SCF248. Theo một số phương án, kháng thể liên kết SCF248 và không liên kết các đồng phân khác của SCF. Theo một số phương án, kháng thể liên kết SCF248 và không liên kết với SCF220. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể hoặc mảnh của chúng mà đặc hiệu đối với SCF248. Kháng thể và mảnh ví dụ mà đặc hiệu đối với SCF248, cũng như là phương pháp tạo ra và sử dụng kháng thể và mảnh này, được đề xuất theo sáng chế. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây phá vỡ vòng phản hồi tích cực giữa SCF248 được biểu hiện trên nhiều loại tế bào khác nhau và tế bào miễn dịch cKit⁺, bằng cách liên kết với SCF248 và phong bế sự tương tác giữa SCF248 và c-Kit.

Các kháng thể và mảnh

Sáng chế đề xuất kháng thể, bao gồm kháng thể đơn dòng, và mảnh của chúng. Mảnh kháng thể được đề xuất ở đây mà đặc hiệu đối với SCF (ví dụ như, SCF248) đôi khi được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng mảnh liên kết kháng nguyên, có nghĩa là chúng có chứa một phần của kháng thể bố mẹ mà có khả năng liên kết kháng nguyên đích (SCF, ví dụ như, SCF248). “Mảnh kháng thể,” “mảnh liên kết kháng nguyên” và dạng tương tự được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này. Các ví dụ về mảnh kháng thể bao gồm mảnh Fab, mảnh Fab’, mảnh F(ab)’, mảnh Fv, vùng CDR được phân lập, dime Fab đặc hiệu kép (Fab2), trime Fab đặc hiệu ba trong một (Fab3), protein Fv đơn chuỗi (“scFv”), bis-scFv, (scFv)₂, minibody, diabody, triabody, tetrabody, protein Fv được làm ổn định disulfua (“dsFv”), kháng thể đơn miền (sdAb, nanobody), kháng thể chỉ có chuỗi nặng (ví dụ như, VHH lạc đà, nanobody lạc đà, NAR Ig cá mập), và các phần của kháng thể chiều dài đầy đủ chịu trách nhiệm đối với việc liên kết kháng nguyên.

“Mảnh Fab” có chứa một chuỗi nhẹ và vùng C_H1 và vùng biến đổi của một chuỗi nặng. Chuỗi nặng của phân tử Fab không thể tạo thành liên kết disulfua với phân tử chuỗi nặng khác. “Mảnh Fab” có chứa một chuỗi nhẹ và một phần của một chuỗi nặng mà chứa miền VH và miền C_H1 và cũng như là vùng ở giữa miền C_H1 và C_H2 , do vậy liên kết disulfua nội chuỗi có thể được tạo thành giữa hai chuỗi nặng của hai mảnh Fab’ để tạo thành phân tử $F(ab')$. “Mảnh $F(ab')_2$ ” chứa hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng chứa một phần của vùng không đổi ở giữa các miền C_H1 và C_H2 , do vậy liên kết disulfua nội chuỗi được tạo thành giữa hai chuỗi nặng này. Do đó mảnh $F(ab')_2$ được tạo thành từ hai mảnh Fab’ mà được giữ với nhau bằng liên kết disulfua giữa hai chuỗi nặng. “Mảnh Fv” có chứa vùng biến đổi từ cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, nhưng thiếu vùng không đổi. “scFv” là phân tử Fv trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kết nối bằng cầu nối linh hoạt để tạo thành chuỗi polypeptit đơn lẻ, mà tạo thành vùng liên kết kháng nguyên.

Theo một số khía cạnh, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây được xác định bằng vùng xác định tính bổ sung (CDR) của chúng. CDR là một phần của chuỗi biến đổi trong kháng thể; mỗi vùng trong số các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có chứa ba CDR, CDR1, CDR2, và CDR3. CDR của kháng thể xác định tính đặc hiệu kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, hình phác họa chính thức của CDR và việc nhận diện của các góc có chứa vị trí liên kết của kháng thể được thực hiện bằng cách làm sáng tỏ cấu trúc của kháng thể và/hoặc làm sáng tỏ cấu trúc của phức hợp kháng thể-phối tử. Theo các phương án nhất định, mà có thể được thực hiện bằng kỹ thuật bất kỳ trong số nhiều kỹ thuật đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn như tinh thể học tia X. Theo các phương án nhất định, nhiều phương pháp phân tích có thể được dùng để xác định hoặc ước lượng vùng CDR. Các ví dụ về phương pháp này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, định nghĩa Kabat, định nghĩa Chothia, định nghĩa AbM và định nghĩa contact.

Định nghĩa Kabat là tiêu chuẩn để đánh số các góc trong kháng thể và thường được sử dụng để xác định vùng CDR. Xem, ví dụ như, Johnson & Wu, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8 (2000). Định nghĩa Chothia tương tự với định nghĩa Kabat, nhưng định nghĩa Chothia tính đến vị trí của các vùng vòng cấu trúc nhất định. Xem, ví dụ như, Chothia và đồng tác giả, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17 (1986); Chothia và đồng tác giả, *Nature*, 342: 877-83 (1989). Định nghĩa AbM sử dụng gói được tích hợp của chương trình máy tính được sản xuất bởi Oxford Molecular Group mà tạo mô hình cấu trúc kháng

thể. Xem, ví dụ như, Martin và đồng tác giả, *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272 (1989); “AbM™, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies,” Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd. Định nghĩa AbM tạo mô hình cấu trúc bậc ba của kháng thể từ trình tự bậc một bằng cách sử dụng dạng kết hợp của cơ sở dữ liệu hiểu biết và phương pháp ngay từ đầu, chẳng hạn như các phương pháp được mô tả bởi Samudrala và đồng tác giả, “Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach,” trong *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198 (1999). Định nghĩa contact dựa trên phân tích của cấu trúc tinh thể phức hợp có sẵn. Xem, ví dụ như, MacCallum và đồng tác giả, *J. Mol. Biol.*, 5:732-45 (1996).

Kháng thể và mảnh của chúng cũng có thể bao gồm polypeptit tái tổ hợp, protein dung hợp, và kháng thể đặc hiệu kép. Kháng thể kháng SCF và mảnh của chúng được bộc lộ ở đây có thể thuộc isotyp IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4. Theo một phương án, kháng thể kháng SCF và mảnh của chúng được bộc lộ ở đây thuộc isotyp IgG1 hoặc IgG4. Kháng thể kháng SCF và mảnh của chúng theo sáng chế có thể có nguồn gốc từ loài bất kỳ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, động vật linh trưởng, lạc đà không bướu, lạc đà, dê, cá mập, gà, và người. Kháng thể SCF và mảnh của chúng có thể là kháng thể khảm, được làm cho giống người, hoặc hoàn toàn của người. Theo một phương án, kháng thể kháng SCF là kháng thể chuột. Theo phương án khác, kháng thể kháng SCF là kháng thể khảm. Theo một phương án khác, kháng thể khảm là kháng thể khảm chuột nhắt-người. Theo phương án khác, kháng thể có nguồn gốc từ chuột nhắt và được làm cho giống người.

“Kháng thể khảm” là kháng thể có ít nhất một phần của vùng biến đổi chuỗi nặng và ít nhất một phần của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có nguồn gốc từ một loài; và ít nhất một phần của vùng không đổi có nguồn gốc từ loài khác. Ví dụ như, theo một phương án, kháng thể khảm có thể có chứa vùng biến đổi chuỗi và vùng không đổi người.

“Kháng thể được làm cho giống người” là kháng thể chứa vùng xác định tính bổ sung (CDR) mà có nguồn gốc từ kháng thể không phải của người; và vùng khung cũng như là vùng không đổi mà có nguồn gốc từ kháng thể người. Ví dụ như, kháng thể kháng SCF được đề xuất ở đây có thể có chứa CDR có nguồn gốc từ một hoặc nhiều kháng thể chuột và khung và vùng không đổi của người. Do đó, theo một phương án, kháng thể được làm cho giống người được đề xuất ở đây liên kết với cùng epitop trên SCF như kháng thể chuột mà CDR của kháng thể có nguồn gốc từ đó.

Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây có chứa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, mỗi chuỗi có chứa ba CDR. Trình tự axit amin của CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng ví dụ (lần lượt là HCDR1, HCDR2, và HCDR3) và CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nhẹ (lần lượt là LCDR1, LCDR2, và LCDR3) được nêu dưới đây trong **Bảng 1**. Bảng 1 cũng nêu trình tự axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ ví dụ. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng “5H10” và “2G8”. Vùng biến đổi chuỗi nặng của 5H10 hoặc 2G8 được làm cho giống người được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng VH1, VH2, VH3, VH4, và VH5. 5H10 VH0 là chuỗi nặng biến đổi của kháng thể bố mẹ chuột được tạo ra bằng các phương pháp được mô tả ở đây. Mỗi vùng VH1, VH2, VH3, VH4, và VH5 là vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người có nguồn gốc từ 5H10 VH0 hoặc VH0 2G8. Kháng thể 5H10 có chứa chuỗi nhẹ kappa. Chuỗi nhẹ biến đổi kháng thể bố mẹ chuột được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng 5H10 VK0. Mỗi vùng VK1, VK2, VK3, và VK4 là vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người có nguồn gốc từ VK0. Kháng thể 2G8 có chứa chuỗi nhẹ lambda. Chuỗi nhẹ biến đổi kháng thể bố mẹ chuột được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng VL0 2G8. Mỗi vùng VL1, VL2, VL3, và VL4 là vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người có nguồn gốc từ VL0.

Bảng 1. Trình tự kháng thể kháng SCF ví dụ

SEQ ID NO	Mô tả	
1	CDR1 Chuỗi nặng 5H10	SYWMN
2	CDR2 Chuỗi nặng 5H10	QIYPGDGDTHYNGKFKG
3	CDR3 Chuỗi nặng 5H10	SNWVGSY
4	CDR1 Chuỗi nhẹ 5H10	KSSQSLLESDGKTYLN
5	CDR2 Chuỗi	LVSRLDS

	nhẹ 5H10	
6	CDR3 Chuỗi nhẹ 5H10	WQGTHLPQT
7	VH0 Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 (bố mẹ chuột)	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKSSGYAFSSYWMNWV KQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADK SSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCSSSNWVGSYWGQGLTV TVSA
8	VH1 Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 (được làm cho giống người)	QVQLVQSGAELKKPGSSVKISCKSSGYAFSSYWMNWV KQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADK STSTAYMELSSLTSEDSAVYFCSSSNWVGSYWGQGLTV TVSS
9	VH2 Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 (được làm cho giống người)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKSSGYAFSSYWMNWV KQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYFCSSSNWVGSYWGQGLTV TVSS
10	VH3 Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 (được làm cho giống người)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCCKSSGYAFSSYWMNWV RQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYFCSSSNWVGSYWGQGLTV VSS
11	VH4 Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 (được làm cho giống người)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCCKSSGYAFSSYWMNWV RQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYFCSSSNWVGSYWGQGLTV VSS
12	VH5 Vùng	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCCKSSGYAFSSYWMNWV

	biến đổi chuỗi nặng 5H10 (được làm cho giống người)	RQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTHYNGKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSED TAVYYCSSSNWVGSYWGQGTLV TVSS
13	VK0 Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 (bố mẹ chuột)	DVVM TQTPLT LSVTIGQTASISCKSSQSLLESDGKTYLN WLSQRPGQSPKR LIYLVSR LDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLG VYYCWQGTHLPQTFGGGTKLEIK
14	VK1 Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 (được làm cho giống người)	DVVM TQSPLT LSVTLGQPASISCKSSQSLLESDGKTYLN WLQQRPGQSPRRLIYLVSR LDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCWQGTHLPQTFGGGTKVEIK
15	VK2 Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 (được làm cho giống người)	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCKSSQSLLESDGKTYLN WLQQRPGQSPRRLIYLVSR LDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCWQGTHLPQTFGGGTKVEIK
16	VK3 Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 (được làm cho giống người)	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCKSSQSLLESDGKTYLN WLQQRPGQSPRRLIYLVSR LDSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCWQGTHLPQTFGGGTKVEIK
17	VK4 Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 (được làm cho giống người)	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCKSSQSLLESDGKTYLN WFQQRPGQSPRRLIYLVSR LDSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCWQGTHLPQTFGGGTKVEIK

	người)	
37	CDR2 5H10 VH5	QIYPGDGDTHYNGKFQG

Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng chuỗi nặng biến đổi và chuỗi nhẹ biến đổi có thể được chọn, hoặc được trộn và được bắt cặp độc lập, từ các kháng thể được đề xuất ở đây. Do đó, theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây có chứa dạng kết hợp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm gồm có VH0/VK0, VH0/VK1, VH0/VK2, VH0/VK3, VH0/VK4, VH1/VK0, VH1/VK1, VH1/VK2, VH1/VK3, VH1/VK4, VH2/VK0, VH2/VK1, VH2/VK2, VH2/VK3, VH2/VK4, VH3/VK0, VH3/VK1, VH3/VK2, VH3/VK3, VH3/VK4, VH4/VK0, VH4/VK1, VH4/VK2, VH4/VK3, VH4/VK4, VH5/VK0, VH5/VK1, VH5/VK2, VH5/VK3, và VH5/VK4.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 7-12. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng theo trình tự được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 7-12. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 7-11, trong đó kháng thể hoặc mảnh có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 1, 2, và 3. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 12, trong đó kháng thể hoặc mảnh có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 1, 37, và 3.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 13-17. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh của chúng có chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo trình tự được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 13-17. Theo một

số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 13-17, trong đó kháng thể hoặc mảnh có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 4, 5, và 6.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh có chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất là ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với: SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 8 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 8 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 8 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 8 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 8 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 11 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 11 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 11 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 11 và SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 11 và SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 12 và SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 12 và SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 12 và SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 12 và SEQ ID NO: 16 hoặc SEQ ID NO: 12 và SEQ ID NO: 17.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể và mảnh của chúng có chứa dạng kết hợp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm gồm có VH1/VK1, VH1/VK2, VH1/VK3, VH2/VK1, VH2/VK2, VH2/VK3, VH3/VK1, VH3/VK2, VH3/VK3, VH4/VK1, VH4/VK2, VH4/VK3, VH5/VK1, VH5/VK2, và VH5/VK3. Theo một số phương án, kháng thể có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 8 hoặc SEQ ID NO: 9; và trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh của chúng, có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 8 hoặc SEQ ID NO: 9;

và trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 16; trong đó kháng thể hoặc mảnh có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 1, 2, và 3, và CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 4, 5, và 6. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh của chúng, có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là ít nhất 95% hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 8 hoặc SEQ ID NO: 9; và trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là ít nhất 95% hoặc ít nhất 99% với SEQ ID NO: 16; trong đó kháng thể hoặc mảnh có chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 1, 2, và 3, và CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng với các SEQ ID NO: 4, 5, và 6. Kháng thể hoặc mảnh của chúng có thể liên kết đặc hiệu với SCF248 nhưng có thể không liên kết với SCF220. Theo một số phương án, kháng thể có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16. Theo một số phương án, kháng thể có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 16.

Theo một số phương án, kháng thể và mảnh được đề xuất ở đây có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, hoặc 12, hoặc biến thể của chúng; và/hoặc có chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, hoặc 17, hoặc biến thể của chúng. Các biến thể có thể có chứa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10 sự thể hoặc sự làm khuyết axit amin, hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, sự thể axit amin là sự thể bảo toàn. Kháng thể kháng SCF được bộc lộ ở đây có một hoặc nhiều sự thể, sự cài xen, sự làm khuyết axit amin, hoặc dạng kết hợp của chúng trong CDR hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng giữ lại hoạt tính sinh học của kháng thể kháng SCF tương ứng mà không có sự thể, sự cài xen, hoặc sự làm khuyết axit amin tương quan với các trình tự được đề xuất ở đây. Do đó, kháng thể kháng SCF biến thể được đề xuất ở đây giữ lại sự liên kết đặc hiệu với SCF248. Thuật ngữ phần trăm đồng nhất, độ tương đồng trình tự, độ đồng nhất trình tự, và dạng tương tự được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này và dùng để chỉ số lượng của trình tự axit amin tương đồng giữa hai trình tự tham chiếu, chia cho tổng số lượng vị trí axit amin, nhân với 100.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà liên kết với cùng epitop như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể ví dụ được bộc lộ ở đây. Do đó, theo một số

phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà cạnh tranh để liên kết với SCF với các kháng thể ví dụ được đề xuất ở đây. Ví dụ như, theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà liên kết đặc hiệu với vùng của trình tự axit amin được đề xuất ở đây dưới dạng SEQ ID NO: 29. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất ở đây liên kết đặc hiệu với epitop có chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 33 (ASSLRNDSSSSNRK) hoặc SEQ ID NO: 36 ASSLRNDSSSSNR). Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà liên kết đặc hiệu với epitop gồm có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 33 hoặc SEQ ID NO: 36. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà liên kết đặc hiệu với epitop có chứa ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, hoặc ít nhất 10 axit amin liền kề của SEQ ID NO: 33.

Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây có chứa HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, và/hoặc LCDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được đề xuất ở đây, hoặc các biến thể của chúng. Do đó, theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được đề xuất ở đây bao gồm kháng thể trong đó HCDR là HCDR của SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, hoặc 12; và/hoặc trong đó LCDR là LCDR của SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, hoặc 17. Ví dụ như, theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa axit amin 31-35, 50-65, và 95-102 của vùng biến đổi bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng được đề xuất ở đây, như được xác định bằng sơ đồ đánh số Kabat. Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng có chứa các axit amin 24-34, 50-56, và 89-97 của vùng biến đổi bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được đề xuất ở đây, như được xác định bằng sơ đồ đánh số Kabat.

Các kháng thể ví dụ được làm cho giống người được đề xuất ở đây. Các kháng thể kháng SCF khác có chứa CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được đề xuất ở đây, hoặc các biến thể của chúng, có thể được tạo ra bằng cách sử dụng trình tự vùng khung của người bất kỳ, và cũng được bao hàm trong sáng chế. Theo một phương án, trình tự vùng khung thích hợp để sử dụng trong sáng chế bao gồm các trình tự vùng khung mà tương tự về mặt cấu trúc với trình tự vùng khung được đề xuất ở đây. Các cải biến khác trong vùng khung có thể được tạo ra để cải thiện tính chất của các kháng thể được đề xuất ở đây. Các cải biến vùng khung khác có thể bao gồm cải biến hóa học; đột biến điểm để làm giảm khả năng sinh miễn dịch hoặc loại bỏ epitop tế bào T; hoặc đột biến trở lại thành gốc trong trình tự dòng mầm ban đầu.

Theo một số phương án, các cải biến vùng khung bao gồm các cải biến tương ứng với đột biến được lấy ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các đột biến trở lại thành trình tự dòng mầm. Ví dụ như, theo một phương án, một hoặc nhiều axit amin trong vùng khung người của VH và/hoặc VL của kháng thể được làm cho giống người được đề xuất ở đây được đột biến trở lại thành axit amin tương ứng trong kháng thể chuột bố mẹ. Sáng chế cũng bao hàm các kháng thể được làm cho giống người mà liên kết với SCF (ví dụ như, SCF248) và có chứa cải biến vùng khung tương ứng với các cải biến ví dụ như được mô tả ở đây về trình tự vùng khung thích hợp bất kỳ, cũng như là các cải biến vùng khung khác mà theo cách khác cải thiện tính chất của kháng thể. Theo các phương án khác, kháng thể được đề xuất ở đây có chứa một hoặc nhiều đột biến để cải thiện độ ổn định, cải thiện độ hòa tan, làm thay đổi sự glycosyl hóa, và/hoặc làm giảm khả năng sinh miễn dịch, chẳng hạn như, ví dụ như, bằng sự thay đổi axit amin được nhắm đích mà làm giảm sự khử amit hoặc oxy hóa, làm giảm sự đồng phân hóa, tối ưu hóa nhân kỵ nước và/hoặc các gốc cụm tích điện, loại bỏ gốc bề mặt kỵ nước, tối ưu hóa gốc tham gia vào mặt phân cách giữa chuỗi nặng biến đổi và chuỗi nhẹ biến đổi, và/hoặc cải biến điểm đẳng điện.

Kháng thể kháng SCF và mảnh của chúng được đề xuất ở đây có thể còn chứa sự cải biến vùng Fc để làm thay đổi chức năng tác động. Sự cải biến Fc có thể là sự cải xen, sự làm khuyết, hoặc sự thể axit amin, hoặc có thể là sự cải biến hóa học. Ví dụ như, sự cải biến vùng Fc có thể được tạo ra để làm tăng hoặc làm giảm sự liên kết bổ thể, để làm tăng hoặc làm giảm tính gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể, hoặc để làm tăng hoặc làm giảm thời gian bán thải của kháng thể. Một số cải biến Fc làm tăng hoặc làm giảm ái lực của kháng thể đối với thụ thể Fcγ chẳng hạn như FcγRI, FcγRII, FcγRIII, hoặc FcRn. Nhiều cải biến Fc đã được mô tả trong lĩnh vực, ví dụ như, trong Shields và đồng tác giả, *J Biol. Chem* 276; 6591 (2001); Tai và đồng tác giả *Blood* 119; 2074 (2012); Spiekermann và đồng tác giả *J Exp. Med* 196; 303 (2002); Moore và đồng tác giả *mAbs* 2:2; 181 (2010); Medzihradsky *Methods in Molecular Biology* 446; 293 (2008); Mannan và đồng tác giả *Drug Metabolism and Disposition* 35; 86 (2007); và Idusogie và đồng tác giả *J Immunol* 164; 4178 (2000). Theo một số phương án, kiểu glycosyl hóa vùng Fc được thay đổi. Theo các phương án khác, vùng Fc được cải biến bằng sự pegyl hóa (ví dụ như, bằng cách cho kháng thể hoặc mảnh của chúng phản ứng với polyetylen glycol (PEG). Sự cải biến Fc ví dụ bao gồm sự cải biến tại một hoặc nhiều vị trí axit amin được

chọn từ nhóm gồm có 228, 233, 234, 235, 236, 241, 248, 265, 297, 309, 331, và 409 (đánh số Kabat; Kabat và đồng tác giả, Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)). Theo các phương án, kháng thể có cải biến để làm giảm hoặc phá hủy chức năng tác động. Theo các phương án, kháng thể là kháng thể IgG1 có một hoặc nhiều cải biến Fc được chọn từ nhóm gồm có E233P, L234V, L234A, L235V, L235A, G236(bị làm khuyết), D265A, D270A, N297A và N297Q. Theo các phương án, kháng thể là kháng thể IgG4 có một hoặc nhiều cải biến Fc được chọn từ nhóm gồm có S228P, E233P, F234A, F234V, L235A, L235V, S241P, L248E, D265A, D265T, L309L, và R409K. Theo các phương án, kháng thể kháng SCF được đề xuất ở đây có chứa đột biến S241P và đột biến L248E.

Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể được đề xuất ở đây mà có chứa vùng không đổi IgG4 người theo các SEQ ID NO: 40 và 41. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa độ tương đồng trình tự là ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc khoảng 99% với SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, hoặc 50. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 40 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 41. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 42, 43, 44, 45, hoặc 46 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 47, 48, 49, hoặc 50. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 42 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 43 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 44 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 45 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49. Theo các phương án, sáng chế đề xuất kháng thể có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 46 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể mà liên kết đặc hiệu với SCF248. Đồng phân SCF248 của SCF bao gồm exon 6, mà có chứa vị trí phân cắt giữa hai gốc alanin (các axit amin 16 và 17 của SEQ ID NO: 34, mà nêu trình tự axit amin của exon 6). Kháng thể kháng SCF trước đây được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột nhất với peptit mở rộng qua exon 6 và một phần của Exon 7 (xem, ví dụ như, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 8,911,729, mà được kết hợp để tham khảo đến toàn bộ nội dung

của nó cho mọi mục đích). Vì SCF220 liên quan đến hoạt tính nội cân bằng, khả năng phản ứng chéo bất kỳ với SCF220 là bất lợi vì nó dẫn đến nhiều tác dụng lệch đích ở đối tượng. Theo cách có lợi, kháng thể được đề xuất trong sáng chế liên kết với SCF248 với độ đặc hiệu rất cao. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất ở đây đặc hiệu đối với SCF248 và không liên kết với SCF220. Do đó, kháng thể được đề xuất ở đây có khả năng ức chế đặc hiệu sự tương tác giữa SCF248 và c-Kit mà gây cảm ứng và duy trì đáp ứng viêm và xơ hóa mãn tính. Hơn nữa, kháng thể được đề xuất ở đây có khả năng gây cảm ứng đặc hiệu sự nội tại hóa của SCF và nhờ đó làm giảm sự tương tác giữa SCF248 và c-Kit. Theo đó, theo một số phương án sáng chế đề xuất kháng thể mà đặc hiệu đối với SCF248 và an toàn và hữu hiệu trong nhiều sự viêm và bệnh xơ hóa được thảo luận ở đây và đã được biết đến trong lĩnh vực.

Để điều chế kháng thể đơn dòng, kỹ thuật bất kỳ mà đề xuất để sản xuất phân tử kháng thể bằng dòng tế bào liên tục trong môi trường nuôi cấy có thể được sử dụng (xem ví dụ như, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.). Các kỹ thuật này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kỹ thuật lai tế bào ban đầu được phát triển bởi Köhler và Milstein và kỹ thuật trioma, kỹ thuật lai tế bào B ở người (Xem, ví dụ như, Kozbor và đồng tác giả, *Immunol. Today*, 4:72 (1983)), và kỹ thuật lai tế bào EBV để sản xuất kháng thể đơn dòng ở người (Cole và đồng tác giả, in *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96 (1985)). Theo cách khác, kháng thể có thể được tạo ra bằng phương pháp ADN tái tổ hợp. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách phân lập kháng thể đơn dòng từ thư viện hiển thị phagơ bằng cách sử dụng kỹ thuật được mô tả, ví dụ như, trong Clackson và đồng tác giả, *Nature* 352:624-28 (1991) và Marks và đồng tác giả, *J. Mol. Biol.* 222(3):581-97 (1991). Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể hoàn toàn của người được tạo cấu trúc bằng cách kết hợp (các) trình tự miền biến đổi dòng Fv được chọn từ thư viện hiển thị phagơ hoặc hiển thị nấm men có nguồn gốc từ người với (các) trình tự miền không đổi ở người đã biết.

Theo một số phương án được đề xuất ở đây, kháng thể được điều chế từ tế bào lai. Bằng cách sử dụng phương pháp lai tế bào, chuột nhắt, chuột đồng, hoặc động vật chủ phù hợp khác, được gây miễn dịch bằng cách tiêm peptit gây miễn dịch để gây ra sự sản xuất kháng thể bằng tế bào lympho của kháng thể mà sẽ liên kết đặc hiệu với kháng nguyên gây miễn dịch. Theo cách khác, tế bào lympho có thể được gây miễn dịch in

vitro. Sau khi gây miễn dịch, tế bào lympho được phân lập và được dung hợp với dòng tế bào u tủy thích hợp bằng cách sử dụng, ví dụ như, polyetylen glycol, để tạo thành tế bào lai mà có thể sau đó được chọn ra khỏi tế bào lympho và tế bào u tủy không dung hợp. Tế bào lai mà sản xuất kháng thể đơn dòng định hướng đặc hiệu chống lại kháng nguyên được chọn như được xác định bằng kết tủa miễn dịch, thẩm tách miễn dịch, hoặc bằng thử nghiệm liên kết in vitro chẳng hạn như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA) có thể sau đó được nhân giống in vitro (ví dụ như, trong môi trường nuôi cấy) bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) hoặc in vivo dưới dạng khối u cổ trướng ở động vật. Sau đó kháng thể đơn dòng có thể được tinh chế từ môi trường nuôi cấy hoặc dịch cổ trướng như mô tả đối với kháng thể đa dòng ở trên.

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất ở đây được tạo ra bằng cách sử dụng hệ thống tế bào lai chuột. Việc sản xuất tế bào lai ở chuột là quy trình đã được thiết lập rõ ràng. Các quy trình và kỹ thuật gây miễn dịch để phân lập các tế bào lách gây miễn dịch để dung hợp được biết đến trong lĩnh vực. Các đối tác dung hợp (ví dụ, tế bào u tủy chuột) và quy trình dung hợp cũng được biết đến trong lĩnh vực. Các phương án của công nghệ ở đây đề xuất kháng thể (ví dụ như, kháng thể đơn dòng) được sản xuất từ tế bào lai được điều chế bằng cách gây miễn dịch chuột nhất với peptit mà là một phần hoặc mảnh của protein SCF.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu đối với SCF248 được đề xuất ở đây được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột nhất với peptit có trình tự axit amin mà phần lớn hoặc chỉ ở trong exon 6. Ví dụ như, peptit gây miễn dịch có chứa sự giãn dài bất kỳ của 5 hoặc hơn 5 axit amin ở trong SEQ ID NO: 34. Ví dụ khác là, peptit gây miễn dịch có chứa sự giãn dài bất kỳ của 5 hoặc hơn 5 axit amin bắt đầu tại vị trí axit amin 20 của SEQ ID NO: 29. Ví dụ khác là, peptit gây miễn dịch có chứa sự giãn dài của 5 hoặc hơn 5 axit amin bắt đầu tại vị trí axit amin 20 của SEQ ID NO: 29 và kết thúc tại vị trí bất kỳ trong số các vị trí từ 25 đến 38 của SEQ ID NO: 29. Do đó, theo một số phương án, peptit gây miễn dịch có chứa trình tự axit amin của exon 6 sau vị trí phân cắt, và được chứa hoàn toàn ở trong exon 6 hoặc có chỉ chứa 1, 2, 3, 4, hoặc 5 axit amin của exon 7. Theo một số phương án, peptit gây miễn dịch có chứa hoặc gồm có SEQ ID NO: 30. Theo một số phương án, peptit gây miễn dịch có chứa peptit bất kỳ trong số các peptit được đề xuất

ở đây hoặc các biến thể bảo toàn của chúng. Các biến thể bảo toàn có thể có chứa 1, 2, 3, 4, hoặc 5 sự thể hoặc sự làm khuyết axit amin, hoặc dạng kết hợp của chúng. Như được đề xuất ở trên, theo một số phương án, kháng thể được tạo ra bằng cách sử dụng peptit gây miễn dịch được đề xuất ở đây có epitop mà nằm toàn bộ hoặc phần lớn ở trong exon 6. “Phần lớn ở trong” nghĩa là ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95% peptit nằm ở trong exon 6. Theo một số phương án, epitop bắt đầu tại vị trí phân cắt của exon 6 (*tức là*, giữa các alanin tại các vị trí axit amin 19 và 20 của SEQ ID NO: 29 và kéo dài đến phía cuối của exon 6. Theo một số phương án, epitop bắt đầu tại vị trí phân cắt của exon 6 và kéo dài đến axit amin đầu tận cùng N thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, hoặc thứ năm của miền xuyên màng. Theo một số phương án, epitop có chứa hoặc gồm có SEQ ID NO: 33. Theo một số phương án, kháng thể được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng 5H10 (bao gồm các kháng thể 5H10 chuột, khảm, và được làm cho giống người) liên kết với epitop của SCF có chứa hoặc gồm có SEQ ID NO: 33.

Theo một số phương án, các phương pháp được đề xuất ở đây được sử dụng để tạo ra kháng thể được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng 5H10. Theo một số phương án, kháng thể “5H10” cũng được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng “OpSCF.” Kháng thể 5H10 liên kết theo cách có lợi SCF248 với độ đặc hiệu cao và không liên kết SCF220. Trình tự axit amin của kháng thể bố mẹ chuột 5H10, cũng như là các biến thể được làm cho giống người của chúng, được đề xuất ở đây (*xem*, Bảng 1).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu mà đặc hiệu đối với SCF và ít nhất một kháng nguyên hoặc epitop khác. Kháng thể kháng SCF và mảnh của chúng được đề xuất ở đây có thể được thử nghiệm về sự liên kết với SCF bằng cách sử dụng các thử nghiệm liên kết được đề xuất ở đây, hoặc thử nghiệm liên kết khác bất kỳ đã được biết đến trong lĩnh vực.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, việc thực hành của sáng chế sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử, sinh học tế bào, hóa sinh, và miễn dịch học thông thường mà đã được biết rõ trong lĩnh vực và được mô tả, ví dụ như, trong *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second edition (Sambrook và đồng tác giả, 1989), *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan và đồng tác giả, eds., 1991); *Immunobiology* (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: a practical approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal antibodies: a practical approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press,

2000); Phage display: a laboratory manual (C. Barbas III và đồng tác giả, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001); và Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999).

Phương Pháp Điều Trị

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn chặn bệnh hoặc tình trạng bệnh bất kỳ liên quan đến sự di trú, sự hoạt hóa, và/hoặc sự tăng sinh tế bào miễn dịch thông qua sự tương tác của SCF248 với c-Kit trên tế bào miễn dịch. Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế hoặc ngăn chặn sự hoạt hóa của tế bào miễn dịch; cũng như là làm giảm hoặc ngăn chặn sự tích lũy của tế bào miễn dịch ở trong cơ quan hoặc mô, nhờ đó điều trị hoặc ngăn chặn nhiều bệnh và rối loạn mà gồm sự viêm. Theo một số phương án, các tế bào miễn dịch được chọn từ nhóm gồm có tế bào mast, tế bào dòng lympho bẩm sinh (ILC, chẳng hạn như tế bào ILC2 hoặc ILC3), và bạch cầu ưa axit.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “việc điều trị” hoặc “điều trị” dùng để chỉ cả việc điều trị trị liệu và biện pháp ngăn ngừa hoặc phòng ngừa. Các đối tượng cần điều trị bao gồm các đối tượng này mà đã có bệnh hoặc tình trạng bệnh, cũng như là các đối tượng mà có thể phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh và ở đối tượng mà có mục đích là để ngăn ngừa, làm chậm, hoặc giảm bớt bệnh hoặc điều kiện bệnh. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” chỉ động vật có vú, chẳng hạn như động vật gặm nhấm, mèo, chó, và động vật linh trưởng. Tốt hơn là, đối tượng theo sáng chế là người. Thuật ngữ “lượng hữu hiệu để điều trị,” như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ lượng hợp chất hoặc hợp phần mà cần để mang lại lợi ích trị liệu và/hoặc ngăn ngừa cho đối tượng.

Theo một khía cạnh sáng chế đề xuất phương pháp điều trị đối tượng đối với bệnh viêm, bệnh xơ hóa, và/hoặc bệnh tái tạo mô. Theo một số phương án, bệnh viêm là bệnh viêm mãn tính.

Bệnh viêm mãn tính, xơ hóa, và tái tạo mô bao gồm các bệnh của phổi, thận, gan, tim, da, mô liên kết, và các mô khác. Bệnh viêm, xơ hóa hoặc tái tạo mô ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, xơ hóa phổi (ví dụ như, xơ hóa phổi vô căn (IPF), xơ cứng bì phổi, bệnh phổi kẽ liên quan đến xơ cứng bì (SSc-ILD), xơ hóa phổi liên quan đến nhiễm khuẩn phổi hoặc viêm phổi, xơ hóa phổi liên quan đến bệnh luput ban đỏ hệ thống và/hoặc viêm khớp dạng thấp, bệnh sarcoid), bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), hội chứng suy hô hấp cấp tính (ARDS), bệnh xơ nang, bệnh xơ hóa quanh phế quản, phổi

nhiễm độc bleomycin, viêm phổi quá mẫn, bệnh hen, bệnh xơ phổi, xơ hóa trung thất, viêm mũi xoang mãn tính, chứng mê đay (ví dụ như, chứng mê đay tự phát mãn tính), viêm da cơ địa, viêm đa cơ, xơ hóa nốt sần dưới biểu bì, xơ cứng bì, sẹo lồi, xơ hóa thận, bệnh thận mãn tính, viêm cầu thận, thải bỏ mảnh ghép thận mãn tính, bệnh thận (ví dụ như, bệnh thận IgA, xơ chai cầu thận khu trú từng vùng, viêm cuộn tiểu cầu thận tiến triển nhanh, viêm cầu thận hình liềm, viêm thận luput, bệnh thận tăng huyết áp, hoặc bệnh thận tiểu đường), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), xơ gan, xơ hóa gan, viêm đường mật xơ cứng nguyên phát, xơ gan mật nguyên phát, chứng đau xơ cơ, xơ hóa nước, xơ hóa do phóng xạ gây ra, viêm thực quản tăng bạch cầu ưa axit, chứng xơ cứng khớp, và xơ hóa tâm nhĩ, xơ hóa màng trong tim, xơ hóa nhu mô, u mô bào sợi, hoặc sẹo thần kinh đệm.

Theo một số phương án, kháng thể và mảnh của chúng được bộc lộ ở đây có thể được dùng cho đối tượng bằng ít nhất một đường được chọn từ các đường gồm ngoài đường tiêu hóa, dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong khớp, trong phế quản, trong bụng, trong bao, trong gian sụn, trong khoang, trong khoang cơ thể, trong tiểu não, trong não thất, trong kết tràng, trong cổ tử cung, trong dạ dày, trong gan, trong cơ tim, trong xương, trong chậu hông, trong màng ngoài tim, trong màng bụng, trong màng phổi, trong tuyến tiền liệt, trong phổi, trong trực tràng, trong thận, trong võng mạc, trong cột sống, trong bao hoạt dịch, trong ngực, trong màng nhĩ, trong tử cung, trong bàng quang, trong thủy tinh thể, tiêm bolus, dưới kết mạc, miệng, âm đạo, trực tràng, qua má, dưới lưỡi, trong mũi, trong khối u, và qua da.

Theo các phương án, kháng thể và mảnh của chúng được bộc lộ ở đây có thể được dùng cho đối tượng cần chúng ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều liệu pháp khác. Một hoặc nhiều liệu pháp khác có thể là quy trình chẳng hạn như quy trình phẫu thuật, hoặc có thể là tác nhân trị liệu, chẳng hạn như tác nhân được thiết kế để làm giảm nhẹ hoặc làm giảm triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn liên quan đến xơ hóa và/hoặc sự viêm.

Sáng chế còn được minh họa bằng cách tham chiếu đến các Ví Dụ sau đây. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các ví dụ này, như các phương án được mô tả ở trên, là để minh họa và không được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo bất kỳ cách nào.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được đưa ra nhằm mục đích minh họa các phương án khác nhau của sáng chế và không có nghĩa là làm giới hạn sáng chế theo bất kỳ cách nào. Các thay

đổi trong đó và các sử dụng khác mà được bao hàm trong tinh thần của sáng chế, như xác định bởi phạm vi của các yêu cầu bảo hộ, sẽ được nhận ra bởi những người có trình độ trung bình trong lĩnh vực.

Tổng quan về tiến trình tổn thương mô/bệnh mô được tóm tắt trên **Hình 1**. Tiến trình bệnh làm bắt đầu sự viêm. Tế bào miễn dịch c-Kit⁺ sản xuất xytokin mà làm cho nguyên bào sợi thay đổi thành nguyên bào sợi cơ đã hoạt hóa mà biểu hiện SCF248 trên bề mặt của chúng. Sự biểu hiện của SCF248 trên bề mặt của nguyên bào sợi cơ và các tế bào khác hoạt hóa nhiều tế bào miễn dịch hơn, dẫn đến sự giải phóng xytokin IL-4, IL-9, IL-13, IL-25, TGF β , và các xytokin khác, duy trì sự viêm. Nguyên bào sợi cơ tiết ra protein nền ngoại bào, collagen, và fibronectin, dẫn đến xơ hóa và bệnh tái tạo mô chẳng hạn như xơ hóa phổi, xơ hóa da, bệnh hen nghiêm trọng, và các bệnh khác.

Cơ chế ví dụ của kháng thể theo sáng chế mà nhắm đích SCF248 (kháng thể này được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng OpSCF và/hoặc dưới dạng 5H10) được tóm tắt trên **Hình 2**.

Như được đề xuất ở trên, SCF có hai đồng phân mà bắt nguồn từ sự cắt nối thay thế: SCF248 và SCF220. SCF248 và SCF220 khác biệt ở exon 6. SCF220 liên quan đến chức năng nội cân bằng, và SCF248 liên quan đến sự viêm và xơ hóa. SCF248 hoạt hóa tế bào miễn dịch trong khi viêm và đôi khi được gọi là “SCF tan.” SCF248 được biểu hiện trên nhiều loại tế bào bao gồm nguyên bào sợi cơ, biểu mô đã hoạt hóa, nội mạc, đại thực bào, bạch cầu ưa axit, tế bào mast, và bạch cầu đơn nhân (**Hình 3**). Đồng phân SCF248 dẫn đến sự phân cắt của miền ngoại bào đã được phân cắt monome, được gọi là SCF165. Trình tự axit amin của exon 6 được đề xuất ở đây dưới dạng SEQ ID NO: 34.

Ví dụ 1: Sản xuất mAb kháng SCF bằng cách sử dụng công nghệ tế bào lai

Peptit có chứa ASSLRNDSSSSNRKAKNPPGD (SEQ ID NO: 30) được sử dụng để tạo ra kháng thể mà liên kết với SCF248. Peptit miễn dịch có chứa một phần của exon 6, tức là đồng phân SCF248 của yếu tố tế bào gốc. Cụ thể là, peptit miễn dịch có chứa một phần của exon 6 mà bắt đầu sau vị trí phân cắt như được xác định ở đây. Chuột nhắt được gây miễn dịch bằng peptit theo SEQ ID NO: 30 bằng quy trình tiêu chuẩn. Việc xác định kháng thể huyết thanh độ chuẩn cao chỉ ra sự gây miễn dịch phù hợp và tế bào lai dung hợp được tạo ra. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được phân tích từ các dòng riêng lẻ về kháng thể đặc hiệu SCF và được chọn dựa trên độ đặc hiệu. Tế bào lai sản xuất kháng thể đơn dòng đặc hiệu chống lại peptit được nhân giống và kháng thể đơn

dòng có độ chuẩn cao nhất được thử nghiệm tiếp trong môi trường liên quan về mặt sinh học. Kháng thể 5H10 có độ đặc hiệu cao đối với SCF248 và không có khả năng phản ứng chéo với SCF220. Không có kháng thể đơn dòng khác được sản xuất bằng tế bào lai có độ đặc hiệu cao đối với SCF248 mà không có khả năng phản ứng chéo với SCF220. Do đó, 5H10 được chọn để xác định đặc điểm, phát triển, và khảm hóa và làm cho giống người tiếp.

Ví dụ 2. 5H10 liên kết với miền ngoại bào đầy đủ SCF248

Kháng thể 5H10 chuột được thu như được mô tả trong Ví Dụ 1 được liên hợp trực tiếp với chỉ thị huỳnh quang và kháng thể đã gắn nhãn được ủ với các tế bào SI/SI4 hSCF248, mà biểu hiện SCF248; tế bào SI/SI4 hSCF220, mà biểu hiện SCF220; hoặc các tế bào đối chứng mà không biểu hiện SCF. Liên kết của kháng thể đã gắn nhãn với tế bào được đánh giá bằng cách đếm tế bào theo dòng. Độ đặc hiệu của 5H10 đối với SCF248 và sự thiếu khả năng phản ứng chéo với SCF220 được thể hiện trên **Hình 4A**.

Liên kết của kháng thể 5H10 chuột với miền ngoại bào (ECD) đã phân cắt chỉ chứa các axit amin 1-165 của SCF, và ECD đầy đủ chứa các axit amin 1-194 của SCF, được đánh giá bằng phương pháp ELISA. Kháng thể liên kết với ECD SCF đầy đủ nhưng không liên kết với ECD SCF đã phân cắt (**Hình 4B**), chứng tỏ rằng kháng thể đặc hiệu đối với miền ngoại bào đầy đủ và không liên kết với ECD đã phân cắt monome mà tuần hoàn trong máu.

Để đánh giá khả năng của các kháng thể 2G8 và 5H10 để nội tại hóa SCF248 trên nguyên bào sợi cơ, kháng thể đã gắn nhãn bằng đồ pHrodo, mà không màu ở độ pH trung tính và phát huỳnh quang màu đỏ ở độ pH thấp ở trong endosom. Kháng thể đã gắn nhãn được ủ với nguyên bào sợi cơ IPF người được nuôi cấy trong 45 phút và huỳnh quang đỏ được quan sát bằng kính hiển vi. Như được thể hiện trên **Hình 5**, kháng thể đã gắn nhãn thuốc nhuộm, nhưng không phải đối chứng IgG, được nội tại hóa nhanh chóng. 5H10 được nội tại hóa nhanh chóng hơn và dẫn đến huỳnh quang cao hơn so với 2G8.

SCF kích hoạt c-kit để truyền tín hiệu bằng hai con đường riêng biệt: con đường MEK/ERK và con đường P13K/AKT. Nghiên cứu được thực hiện để xác định liệu kháng thể 5H10 chuột có ức chế việc truyền tín hiệu nội bào trong tế bào c-kit dương trong một hay cả hai con đường này hay không. Bạch cầu ưa axit được ủ với dòng tế bào biểu hiện SCF248, trong sự có mặt của 5H10 hoặc đối chứng IgG, và sự biểu hiện phospho-protein được đo bằng hệ thống thử nghiệm BioRad Bio-Plex. 5H10 làm giảm đáng kể hàm lượng

phospho-MEK và phosphor-AKT, chỉ ra rằng kháng thể làm giảm đáng kể việc truyền tín hiệu nội bào qua trung gian c-kit (**Hình 6**).

Cùng với nhau, kết quả của các nghiên cứu này chỉ ra rằng kháng thể 5H10 liên kết đặc hiệu với và nội tại hóa SCF248, và không phản ứng chéo với đồng phân SCF220 hoặc ECD đã phân cắt. Hơn nữa, 5H10 ức chế đáng kể con đường truyền tín hiệu nội bào trong tế bào c-kit dương mà duy trì sự viêm.

Ví dụ 3. Sự làm cho giống người của kháng thể chuột 5H10

Kháng thể khảm có nguồn gốc từ 5H10 được sản xuất bằng cách tách dòng phụ miên biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ vào vector với khung IgG4 người. Kháng thể khảm được biểu hiện và được tinh chế bằng cách sử dụng quy trình tiêu chuẩn. 2G8 là kháng thể được phát triển từ trước mà liên kết với SCF248 và SCF220, và chứa chuỗi nhẹ lambda. Chuỗi nặng và chuỗi nhẹ khảm của 2G8 lần lượt được gọi là VH0 và VL0. 5H10, kháng thể đặc hiệu SCF248 được đề xuất ở đây, chứa chuỗi nhẹ kappa. Chuỗi nặng và chuỗi nhẹ khảm của 5H10 lần lượt được gọi là VH0 và VK0.

Kháng thể khảm được làm cho giống người. Chuỗi nặng được làm cho giống người giữ lại cùng vùng xác định tính bổ sung (CDR) nhưng nhiều vùng khung “giống-người” hơn, và một vài biến thể được làm cho giống người của mỗi chuỗi nặng biến đổi 2G8 và 5H10, được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng VH1, VH2, VH3, VH4, và VH5, được tạo ra. Biến thể chuỗi nhẹ kappa được làm cho giống người của 5H10, được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng VK1, VK2, VK3, và VK4, cũng được tạo ra. Chuỗi nhẹ lambda được làm cho giống người của 2G8 được gọi là VL1, VL2, VL3, và VL4. Dạng kết hợp 2G8 và 5H10 của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng khảm và được làm cho giống người được thử nghiệm được thể hiện lần lượt trong **Bảng 2** và **Bảng 3**. Như được thể hiện trong Bảng 2, dạng kết hợp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nhất định của biến thể kháng thể 5H10 dẫn đến độ liên kết cao với hSCF248. Dữ liệu liên kết được sử dụng để xác định điểm liên kết được nêu dưới đây trong Ví Dụ 5.

Bảng 2. Điểm liên kết đối với dòng khảm và được làm cho giống người 2G8 với tế bào SI/SI4 hSCF248

<u>mAb 2G8</u>	<u>Điểm Liên Kết</u>
VH0/ VL0	cao
VH1/VL1	Cao vừa phải

<u>mAb 2G8</u>	<u>Điểm Liên Kết</u>
VH1/VL3	vừa phải
VH1/VL4	Vừa phải
VH2/VL1	Vừa phải
VH2/VL4	Vừa phải
VH3/VL1	Vừa phải
VH3/VL4	Vừa phải
VH4/VL1	Vừa phải
VH4/VL2	Vừa phải
VH5/VL1	Cao vừa phải
VH5/VL4	Vừa phải

Bảng 3. Điểm liên kết đối với dòng khảm và được làm cho giống người 5H10 với tế bào SI/SI4 hSCF248

<u>mAb 5H10</u>	<u>Điểm Liên Kết</u>
VH0/ VK0	cao
VH1/VK1	Cao
VH1/VK2	Cao
VH1/VK3	Cao
VH1/VK4	Không liên kết
VH2/VK2	Cao vừa phải
VH2/VK3	cao
VH3/VK2	Vừa phải
VH3/VK3	Vừa phải
VH4/VK2	Thấp vừa phải
VH4/VK3	Thấp vừa phải
VH5/VK2	Thấp
VH5/VK3	thấp

Ái lực liên kết cũng được đánh giá bằng cách sử dụng phân tích BiaCore. Dữ liệu BiaCore thể hiện rằng ái lực đối với kháng nguyên peptit SCF248 được cố định của tất cả kháng thể 5H10 được làm cho giống người có chuỗi nhẹ VK1, VK2, hoặc VK3 rất tương

tự với ái lực liên kết của 5H10 chuột bố mẹ bằng cách sử dụng thử nghiệm này. Các kháng thể được làm cho giống người 5H10 có chuỗi nhẹ VK4 không liên kết với peptit.

Bảng 4. Dữ liệu Biacore

	VK0	VK1	VK2	VK3	VK4
VH0	1,00	0,91			
VH1	0,92	0,99	0,97	0,94	-
VH2		0,98	0,99	0,94	-
VH3		1,15	1,16	1,10	-
VH3		1,27	1,32	0,85	-
VH5		1,07	0,93	1,09	-

Ví dụ 4. Đánh Giá Liên Kết Kháng Thể Khảm Kháng SCF Bằng Cách Đếm Tế Bào Theo Dòng

Tế bào SI/SI4 hSCF248, dòng tế bào đã được chuyển nạp mà biểu hiện SCF248, được sử dụng để thử nghiệm sự liên kết của các kháng thể khảm 2G8 và 5H10. Kháng thể kháng SCF được sử dụng làm đối chứng dương đối với sự liên kết SCF. Kháng thể IgG4 người được sử dụng làm kháng thể đối chứng isotyp âm. Tế bào SI/SI4 hSCF248 khi cấy chuyển sớm (P3) được so sánh với các tế bào khi cấy chuyển muộn hơn (P5). Như mong đợi, đối chứng âm (kháng thể IgG4 người) không liên kết với quần thể tế bào nào. 5H10 liên kết với tế bào khi cấy chuyển sớm (**Hình 7A**), nhưng không được phát hiện khi cấy chuyển muộn hơn (**Hình 7B**), do sự mất đi của sự biểu hiện SCF248 qua nhiều lần cấy chuyển. Tương tự, cường độ phát huỳnh quang trung bình (MFI) lớn nhất được phát hiện với 10 µg/ml của 2G8 được làm giảm khoảng bốn lần tại P5 so với P3.

Quan sát tương tự được nhìn thấy với tế bào được xử lý hygromyxin B. Việc chọn lọc hygromyxin được sử dụng để làm giàu phân đoạn của tế bào SI/SI4 biểu hiện trình tự SCF người liên quan. Sự liên kết của hai mAb kháng SCF khảm 2G8 và 5H10 và kháng thể kháng SCF được làm cho giống người được đánh giá thông qua việc đếm tế bào theo dòng. Tế bào SI/SI4 hSCF248 và tế bào SI/SI4 hSCF220, mà lần lượt là SCF248+ và SCF220+, được sử dụng để thử nghiệm sự liên kết và độ đặc hiệu của các kháng thể khảm 2G8 và 5H10. Kháng thể kháng SCF được sử dụng làm đối chứng dương đối với sự liên kết SCF. Kháng thể IgG4 người được sử dụng làm kháng thể đối chứng isotyp âm. Tế bào được xử lý hygromyxin B được so sánh với tế bào cấy chuyển sớm (P3).

Cường độ huỳnh quang trung bình (MFI) lớn nhất và đường cong đáp ứng liều lượng kháng thể tương tự với tế bào cấy chuyển sớm (P3) (**Hình 8A, Hình 8B**).

Ví dụ 5. Đánh Giá Liên Kết của mAb Được Làm Cho Giống Người 2G8 và 5H10
Bảng Cách Đếm Tế Bào Theo Dòng

Tế bào SI/SI4 hSCF248 và tế bào SI/SI4 hSCF220, mà lần lượt là SCF248+ và SCF220+, được sử dụng để thử nghiệm sự liên kết và độ đặc hiệu của các kháng thể khảm 2G8 và 5H10, và các biến thể được làm cho giống người của chúng. Ở cả hai bộ thí nghiệm, kháng thể IgG4 người được sử dụng làm kháng thể đối chứng isotyp âm. Đối chứng isotyp không liên kết với tế bào SI/SI4 hSCF248 hoặc tế bào SI/SI4 hSCF220 (**Hình 9A, 9B, 10A, và 10B**). Kháng thể kháng SCF có sẵn trên thị trường (Abcam, Cat # EP665Y/ab52603) được phát hiện là liên kết tế bào SI/SI4 hSCF220 và liên kết yếu với tế bào SI/SI4 hSCF248 (chỉ ở độ pha loãng 1:25) (các **Hình 9A, 9B, 10A, và 10B**). VH0/VL0 2G8 (2G8 khảm) thể hiện sự liên kết mạnh hơn dòng được làm cho giống người của nó. Tuy nhiên, VH0/VL0 2G8 cũng thể hiện sự liên kết với tế bào SI/SI4 hSCF220 ở nồng độ kháng thể bằng 3,3 và 10 $\mu\text{g/ml}$ (**Hình 9A, Hình 9B**). 5H10 VH0/VK0 thể hiện sự liên kết cao hơn so với dòng được làm cho giống người 5H10 VH3/VK2, 5H10 VH3/VK3, 5H10 VH4/VK2, 5H10 VH4/VK3, 5H10 VH5/VK2, và 5H10 VH5/VK3 (**Hình 10A**). Không có liên kết của 5H10 hoặc các biến thể được làm cho giống người bất kỳ của chúng với tế bào SI/SI4 hSCF220 được quan sát thấy (**Hình 10B**). Sự khác nhau giữa các biến thể được làm cho giống người 5H10 được chỉ ra theo 50% liên kết lớn nhất (BC_{50}) trong nghiên cứu này được thể hiện trong **Bảng 5**. Sự liên kết của dòng 5H10 đạt sự bão hòa ở 3,3 $\mu\text{g/ml}$ trên tế bào SI/SI4 hSCF248. (**Hình 10A**).

Bảng 5. Giá trị BC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) đối với sự liên kết của biến thể 5H10 khảm và được làm cho giống người, đối chứng isotyp, và kháng thể kháng SCF có sẵn trên thị trường với tế bào SI/SI4 hSCF248

<u>ID mẫu</u>	<u>BC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)</u>
5H10 VH0/VK0	5,47
5H10 VH3/VK2	1,36
5H10 VH3/VK3	0,90
5H10 VH4/VK2	1,91
5H10 VH4/VK3	1,18
5H10 VH5/VK2	2,12

5H10 VH5/VK3	0,67
Đối chứng isotýp	không áp dụng
Abcam kháng SCF	3,02

Tế bào SI/SI4 hSCF248 được sử dụng để thử nghiệm sự liên kết của các biến thể được làm cho giống người khác của 5H10 và 2G8. VH0/VL0 2G8 (khảm) thể hiện sự liên kết tế bào mạnh hơn so với biến thể được làm cho giống người (**Hình 11A**). Biên dạng liên kết của dòng 5H10 được làm cho giống người 5H10 VH1/VK1, 5H10 VH1/VK2, 5H10 VH1/VK3, 5H10 VH2/VK2, 5H10 VH2/VK3 có thể so sánh được với biên dạng liên kết của 5H10 VH0/VK0 (**Hình 11B**). Thống nhất với dữ liệu Biacore, được thể hiện ở trên, biến thể được làm cho giống người 5H10 VH1/VK4 mất khả năng liên kết đích (**Hình 11B**). Đối chứng isotýp không liên kết với tế bào SI/SI4 hSCF248. Dựa trên dữ liệu được thể hiện trong các nghiên cứu này, mAb 2G8 và 5H10 được làm cho giống người được gán điểm liên kết với tế bào SI/SI4 hSCF248, mà được thể hiện trong **Bảng 2** và **Bảng 3**, ở trên.

Ở các thí nghiệm riêng rẽ, dòng 5H10 VH1/VK3, VH2/VK3, VH3/VK3, VH4/VK3, và VH5/VK3 được đánh giá bằng cách đếm tế bào theo dòng đối với sự liên kết với dòng tế bào biểu hiện SCF248. Như được thể hiện trên **Hình 11C** và **11D**, VH1/VK3 và VH2/VK3 thể hiện sự liên kết cao, lớn nhất ở 1 µg/ml. Đối chứng âm chỉ là kháng thể thứ cấp. Không có sự liên kết được quan sát thấy với dòng tế bào biểu hiện SCF220 (không được thể hiện).

Ví dụ 6. Sự phong bế *in vitro* của sự tương tác của SCF và c-kit

Các kháng thể 5H10 được làm cho giống người được thử nghiệm về khả năng ức chế sự tương tác SCF-c-kit và vòng nạp tiếp viêm *in vitro*. Nguyên bào sợi cơ IPF người (Mfb) được nuôi cấy, mà biểu hiện SCF248 bề mặt, được chồng lên bằng tế bào mast LAD2, dòng tế bào đáp ứng SCF. Không có bất kỳ sự can thiệp nào, Mfb kích thích tế bào LAD2, mà sản xuất xytokin để kích thích Mfb sản xuất thêm xytokin và protein nền ngoại bào. Trong thử nghiệm này, kết quả đọc đối với sự viêm và vòng cấp tiếp là mARN đối với CCL11, collagen 1 và 3, và fibronectin.

Các kháng thể 5H10 chuột và 5H10 được làm cho giống người (VH1/VK3, VH2/VK3, VH3/VK3, VH4/VK3, và VH5/VK3) được ủ trước với Mfb ở nồng độ bằng 1 µg/ml và 10 µg/ml để đánh giá khả năng của chúng để ức chế vòng cấp tiếp. Kết quả

được thể hiện trên **Hình 12A-12D**. Kháng thể VH1/VK3 được làm cho giống người minh họa nhất quán sự ức chế của sự tương tác SCF – c-kit, thậm chí ở nồng độ thấp.

Để đánh giá khả năng của kháng thể được làm cho giống người (5H10 VH1/VK3 và VH2/VK3) để nội tại hóa SCF248 trên nguyên bào sợi cơ, kháng thể đã gắn nhãn bằng đỏ pHrodo, mà không màu ở độ pH trung tính và phát huỳnh quang màu đỏ ở độ pH thấp ở trong endosom. Kháng thể đã gắn nhãn được ủ với nguyên bào sợi cơ IPF người được nuôi cấy trong 45 phút và huỳnh quang đỏ được quan sát bằng kính hiển vi. Như được thể hiện trên **Hình 13**, giống như kháng thể 5H10 bỏ mẹ chuột và kháng thể khảm (VH0/VK0), các kháng thể đã được làm cho giống người được nội tại hóa nhanh chóng.

Ví dụ 7. Khả Năng Sinh Miễn Dịch Của Kháng Thể Khảm 5H10 Và Các Ứng Viên Dẫn Đầu Được Làm Cho Giống Người

Khả năng sinh miễn dịch của năm kháng thể được làm cho giống người 5H10 VH1/VK3, 5H10 VH2/VK3, 5H10 VH3/VK3, 5H10 VH4/VK3, và 5H10 VH5/VK3 được so sánh với kháng thể khảm 5H10 VH0/VK0.

Việc đánh giá ban đầu của tác dụng gây độc tế bào bất kỳ của các mẫu lên khả năng sống PBMC được thực hiện đối với năm thể cho được sử dụng trong thử nghiệm khoảng thời gian EpiScreen™. PBMC được làm nghèo tế bào T CD8+ được ủ với các mẫu và khả năng sống của tế bào được xác định bằng cách sử dụng Máy Đếm Tế Bào Tự Động Luna-FL™ vào ngày 7. Kết quả cho thấy rằng khả năng sống trung bình của PBMC từ năm thể cho được xử lý bằng mAb kháng SCF tương tự với khả năng sống trung bình các tế bào chỉ được xử lý bằng môi trường, nằm trong khoảng từ 83% đến 90% (**Hình 14**). KLH (Pierce, Life Technologies, Anh) được sử dụng dưới dạng kháng nguyên tân tạo. Exenatit (Bydureon, AstraZeneca, Anh) được sử dụng làm đối chứng dấu hiệu nhận biết lâm sàng. **Hình 15A-H** và **Bảng 6** bộc lộ kết quả thu được từ thử nghiệm tăng sinh tế bào T trong khoảng thời gian EpiScreen™ của đáp ứng tế bào T CD4+ được gây ra bởi các mẫu và đối chứng. Cả hai dấu hiệu nhận biết lâm sàng, exenatit, và kháng nguyên tân tạo, KLH, đều gây ra đáp ứng tăng sinh dương tính. Tần xuất thấp của tỉ lệ đáp ứng dương ($SI \geq 1,90$, $p < 0,05$) được gây ra bằng 5H10 VH1/VK3, 5H10 VH2/VK3, và 5H10 VH3/VK3, nằm trong khoảng từ 4 % đến 8 %. Mẫu 5H10 VH5/VK3 gây ra đáp ứng dương cao hơn trong 17 % đoàn hệ thể cho. 5H10 VH0/VK0 và 5H10 VH4/VK3 không gây ra đáp ứng dương bất kỳ. Độ lớn trung bình của đáp ứng tăng sinh tế bào T dương nằm trong khoảng từ 2,14 đến 3,61 đối với tất cả các mẫu (**Bảng 7**).

Phân tích độ biến thiên, ANOVA, của toàn bộ tập dữ liệu tăng sinh (sử dụng độ lớn lớn nhất của sự tăng sinh giữa các ngày 5-8) được sử dụng để xác định liệu có thể có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê bất kỳ về độ lớn lớn nhất của đáp ứng tế bào T CD4⁺ với điều kiện thử nghiệm so với nhau và dấu hiệu nhận biết lâm sàng, exenatit hay không (Hình 16). Độ lớn lớn nhất của đáp ứng tăng sinh tế bào T với exenatit cao hơn về mặt thống kê so với đáp ứng với tất cả các mẫu (Bảng 8).

Bảng 6. Tóm tắt của đáp ứng tăng sinh tế bào T ở thể cho khỏe mạnh. Đáp ứng tế bào T dương đối với sự tăng sinh ($SI \geq 1,90$, $p < 0,05$) trong toàn bộ khoảng thời gian các ngày 5-8 ("P"). Tần xuất của đáp ứng dương được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm ở bên dưới của các cột.

	5H10 VH0/VK0	5H10 VH1/VK3	5H10 VH2/VK3	5H10 VH3/VK3	5H10 VH4/VK3	5H10 VH5/VK3	Exenatit	KLH
Thế Cho 1							P	P
Thế Cho 2							P	P
Thế Cho 3							P	P
Thế Cho 4				P		P	P	P
Thế Cho 5								P
Thế Cho 6							P	P
Thế Cho 7								P
Thế Cho 8							P	P
Thế Cho 9							P	P
Thế Cho 10							P	P
Thế Cho 11								P
Thế Cho 12							P	P
Thế Cho 13		P					P	P
Thế Cho 14						P	P	P
Thế Cho 15						P	P	P
Thế Cho 16							P	P
Thế Cho 17			P				P	P
Thế Cho 18			P				P	P

Thẻ Cho 19							P	P
Thẻ Cho 20								P
Thẻ Cho 21								P
Thẻ Cho 22						P		P
Thẻ Cho 23								P
Thẻ Cho 24								P
% Sự Tăng Sinh	0	4	8	4	0	17	67	100

Bảng 7. Tóm tắt của độ lớn ($\pm$ SD) của đáp ứng tăng sinh tế bào T dương ($SI \geq 1,90$, p có ý nghĩa $< 0,05$). SI trung bình được tính từ giá trị trung bình của tất cả các đáp ứng thẻ cho dương quan sát được trong toàn bộ khoảng thời gian (các ngày 5-8). N/A biểu thị không áp dụng.

Mẫu	SI trung bình	SD	% Đáp ứng
VH0/ VK0	Không áp dụng	Không áp dụng	0
VH1/VK3	2,88	$\pm 0,13$	4
VH2/VK3	3,61	$\pm 1,36$	8
VH3/VK3	3,09	$\pm 0,88$	4
VH4/VK3	Không áp dụng	Không áp dụng	0
VH5/VK3	2,14	$\pm 0,43$	17
Exenatit	2,99	$\pm 0,92$	67
KLH	14,95	$\pm 11,22$	100

Bảng 8. Lập lại các phép đo ANOVA một chiều (thử nghiệm Friedman) bằng cách sử dụng sự so sánh theo cặp sau kiểm định Dunn. SI lớn nhất từ dữ liệu tăng sinh từ tất cả các thời điểm của tất cả thẻ cho được phân tích. ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$ và ns = không đáng kể.

	5H10 VH0/VK0	5H10 VH1/VK3	5H10 VH2/VK3	5H10 VH3/VK3	5H10 VH4/VK3	5H10 VH5/VK3
5H10 VH1/VK3	không đáng kể					

5H10 VH2/VK3	không đáng kể	không đáng kể				
5H10 VH3/VK3	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể			
5H10 VH4/VK3	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể		
5H10 VH5/VK3	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể	không đáng kể	
Exenatit	****	****	****	****	****	**

Tóm lại, nguy cơ về khả năng sinh miễn dịch lâm sàng được xác định bằng cách đo đáp ứng tế bào T *ex vivo* bằng cách sử dụng tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) được phân lập từ 24 thể cho khỏe mạnh đại diện dân số Châu Âu và Bắc Mỹ (dựa trên alotyp HLA) trong thử nghiệm tế bào T trong khoảng thời gian EpiScreen™. Đáp ứng tế bào T được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm tăng sinh (độ hấp thụ [³H]-thymidin). Kết quả cho thấy rằng bốn trong số các kháng thể được làm cho giống người dẫn đầu có tiềm năng thấp đối với khả năng sinh miễn dịch lâm sàng.

Ví dụ 8. Đánh giá 5H10 chuột trong mô hình bleomycin của sự viêm và xơ hóa phổi

Mô hình động vật bleomycin của xơ hóa phổi được dùng để đánh giá tác dụng *in vivo* của 5H10. Bleomycin là tác nhân hóa trị liệu mà gây ra xơ hóa phổi ở người và động vật. Chuột nhắt C57BL6 được cho dùng bleomycin trong khí quản vào Ngày 1, và vào các Ngày 8 và 12 tiếp nhận 5H10 trong màng bụng ở mức 20 mg/kg hoặc kháng thể đối chứng được bắt cặp isotóp. Vào Ngày 17 các mẫu được thu lấy. Các con vật được điều trị bằng 5H10 có sự cải thiện đáng kể trong mô học phổi (**Hình 17**), sự giảm đi của hydroxyprolin phổi (số đo định lượng của sự xơ hóa; **Hình 18**), duy trì khối lượng cơ thể theo thời gian (**Hình 19**), sự giảm đi của mRNA đối với xytokin viêm và chỉ thị của sự hoạt hóa nguyên bào sợi cơ (**Hình 20**), và trong tế bào mast, bạch cầu ưa axit và tế bào lympho ILC2 ở phổi (**Hình 21**). Thử nghiệm chức năng phổi cũng được cải thiện đáng kể (**Hình 22**). Do đó, nghiên cứu này chứng tỏ rằng 5H10 hữu hiệu để làm giảm xơ hóa và sự viêm, và cải thiện chức năng phổi, trong mô hình *in vivo* của xơ hóa phổi.

Ví dụ 9. Đánh giá các kháng thể 5H10 được làm cho giống người trong mô hình bệnh hen dị ứng mãn tính

Kháng thể 5H10 được làm cho giống người được thử nghiệm trong mô hình *in vivo* của bệnh hen dị ứng mãn tính. Chuột nhất được làm cho nhạy cảm đối với kháng nguyên gián (CRA) trong màng bụng và dưới da sau đó là liều tăng cường qua đường mũi vào các ngày 14, 18, 22 và 26. Vào các ngày 26, 29, 32, và 34 chúng được dùng kháng thể 5H10 được làm cho giống người được chỉ định hoặc đối chứng PBS, trong màng bụng ở mức 20 mg/kg hoặc kháng thể đối chứng không liên quan. Vào các ngày 30 và 34, chúng cũng tiếp nhận CRA trong khí quản. Vào Ngày 35 các mẫu vật được thu lấy. Sơ đồ của thiết kế nghiên cứu được nêu trên **Hình 23**.

Kháng lực đường thở nhỏ hơn đáng kể ở động vật được điều trị bằng kháng thể 5H10 VH1/VK3 so với đối chứng PBS cũng như là với các kháng thể biến thể được làm cho giống người khác (**Hình 24A**). Hơn nữa, ở các con vật được điều trị bằng VH1/VK3 hoặc VH2/VK3, có sự giảm đáng kể về mARN IL-13 phối tương quan với đối chứng bệnh hen mãn tính (tức là, so với các con vật dùng CRA mà không có việc điều trị kháng thể bất kỳ (đối chứng PBS)) (**Hình 24B**). Hơn nữa, sự biểu hiện gen chất nền được làm giảm đáng kể ở các con vật mà tiếp nhận việc điều trị kháng thể VH1/VK3 (mARN Collagen 1 được thể hiện trên **Hình 24C**; mARN Collagen 3 được thể hiện trên **Hình 24D**). Sự biểu hiện mARN SCF248 cũng được làm giảm đáng kể ở các con vật được điều trị bằng VH1/VK3 (**Hình 24E**). Các **Hình 25A, 25B, và 25C** cho thấy rằng việc dùng VH1/VK3 làm giảm hàm lượng mARN của protein dịch nhày Gob5 và các xytokin IL-13 và IL-5 ở nồng độ bằng 1 mg/kg và 5 mg/kg. Theo đó, dữ liệu cho thấy rằng kháng thể VH1/VK3 phong bế sự biểu hiện gen xytokin và chất nền *in vivo* trong mô hình của bệnh hen mãn tính.

Ví dụ 12. Thử Nghiệm Lâm Sàng Pha 1a Để Đánh Giá Độ An Toàn, Dược Động Học, Và Dược Lực Học Của Kháng Thể Kháng SCF248

110 tình nguyện viên khỏe mạnh sẽ tham gia vào nghiên cứu Pha 1a. Mục đích cơ bản là để thu được đánh giá độ an toàn và thu được dữ liệu dược động học và dược lực học chính xác đối với kháng thể kháng SCF248 được làm cho giống người 5H10.

Các liều đơn lẻ tăng dần và nhiều liều tăng dần của 5H10 được làm cho giống người, hoặc giả dược, sẽ được dùng, trong tĩnh mạch hoặc dưới da. Từ sáu đến 8 đối tượng sẽ tạo thành một nhóm. Liều lượng bắt đầu sẽ dựa trên nghiên cứu độc học được

thực hiện theo thực hành phòng thí nghiệm tốt. Dược động học đường cơ sở sẽ được thu lấy đối với tất cả sự phát triển và tuổi thọ sản phẩm. Để đánh giá dược lực học, số lượng của tế bào c-kit+ tuần hoàn sẽ được đánh giá, bao gồm tế bào tổ tiên tế bào mast và tế bào dòng lympho bẩm sinh kiểu 2 (ILC2), ngoài chỉ thị viêm trong huyết thanh chẳng hạn như SCF165.

Ví dụ 13. Nghiên Cứu Lâm Sàng Để Đánh Giá Độ An Toàn Và Hiệu Quả Của Kháng Thể Kháng SCF248 Ở Bệnh Nhân

Các bệnh nhân mắc rối loạn viêm chẳng hạn như viêm da cơ địa, chứng mề đay mãn tính, xơ hóa phổi, và/hoặc các bệnh khác sẽ tham gia vào nghiên cứu lâm sàng. Một mục đích của nghiên cứu này là để thiết lập mối quan hệ đáp ứng liều lượng giữa kháng thể 5H10 được làm cho giống người và chỉ thị dược lực học ở các bệnh nhân mắc bệnh *ví dụ như* số lượng của tế bào c-kit+ tuần hoàn, chẳng hạn như tế bào tổ tiên tế bào mast và tế bào dòng lympho bẩm sinh kiểu 2 (ILC2). Chỉ thị sinh học viêm, chẳng hạn như ADAM8, CCL17, EPX, RNASE3, CCL2, CCL5, tryptase, histamin và SCF165 cũng sẽ được đo.

Liều tăng dần, đơn lẻ của kháng thể 5H10 sẽ được cấp cho mỗi nhóm đối tượng. Liều lượng bắt đầu sẽ dựa trên chỉ thị sinh học dược lực học Pha 1a. Bệnh nhân sẽ được điều trị trong một, hai, ba, hoặc hơn ba tháng. Kết quả của nghiên cứu cho thấy rằng kháng thể 5H10 được làm cho giống người hữu hiệu trong việc làm ổn định và/hoặc điều trị và/hoặc ngăn chặn sự tiến triển của rối loạn viêm và bệnh xơ hóa.

Tài liệu công bố, bằng độc quyền sáng chế, và đơn đăng ký sáng chế được viện dẫn ở đây được kết hợp cụ thể để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng. Mặc dù sáng chế đã được mô tả có tham chiếu đến các phương án cụ thể của chúng người có trình độ trung bình trong lĩnh vực cần hiểu rằng các thay đổi khác nhau có thể được tạo ra và các dạng tương đương có thể được thay thế mà không nằm ngoài tinh thần và phạm vi thực sự của sáng chế. Ngoài ra, nhiều sự cải biến có thể được tạo ra để thích ứng với tình huống, nguyên liệu, hợp phần vật chất, quy trình, bước hoặc các bước quy trình cụ thể, đối với mục đích, tinh thần và phạm vi của sáng chế được mô tả này. Tất cả các cải biến này được dự định nằm trong phạm vi của các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể liên kết đặc hiệu với yếu tố tế bào gốc 248 (stem cell factor – SCF248), trong đó kháng thể này có chứa chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 lần lượt bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 1, 2, và 3; và chuỗi nhẹ CDR1, CDR2 và CDR3 lần lượt bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 4, 5 và 6; trong đó kháng thể này được làm cho giống người và kháng thể này bao gồm:

- (a) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 8; và
- (b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 16.

2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này có chứa miền IgG4 người.

4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó miền IgG4 có chứa đột biến S241P tại gốc axit amin 241 và đột biến L248E tại gốc axit amin 248, trong đó việc đánh số của các gốc là việc đánh số của hệ thống đánh số Kabat.

5. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này có chứa chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 42 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 49.

6. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó kháng thể này phong bế sự tương tác giữa SCF và c-Kit.

7. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó kháng thể này chúng gây ra sự nội tại hóa của SCF.

8. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó kháng thể này không liên kết với SCF220.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Opsidio, LLC

<120> KHÁNG THỂ KHÁNG YẾU TỔ TẾ BÀO GỐC VÀ PHƯƠNG PHÁP SỬ DỤNG CHÚNG

<130> OPSL-001/01WO 336059-2005

<150> US 62/900,927

<151> 2019-09-16

<160> 50

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr His Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr

1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 5

Leu Val Ser Arg Leu Asp Ser
 1 5

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 6

Trp Gln Gly Thr His Leu Pro Gln Thr
 1 5

<210> 7
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 7

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ala
 115

<210> 8

<211> 116
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 được làm cho giống người VH1

<400> 8

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 9
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 được làm cho giống người VH2

<400> 9

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

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

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

Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr His Tyr Asn Gly Lys Phe

50

55

60

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 được làm cho giống người VH3

<400> 10

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 116
<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 được làm cho giống người VH4

<400> 11

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 12

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng 5H10 được làm cho giống người VH5

<400> 12

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 13
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13

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

Gln Thr Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 14
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 được làm cho giống người VK1

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 được làm cho giống người VK2

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

<210> 16
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 được làm cho giống người VK3
 <400> 16

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 5H10 được làm cho giống người VK4
 <400> 17

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

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

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

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

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

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

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

<210> 18
<211> 348
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 18
cagggttcagc tgcagcagtc tggggctgag ctcgtagagc ctgggtcctc agtgaagatt
60
tcctgcaagt cttctggcta tgcattcagt agctactgga tgaactgggt gaagcagagg
120
cctggacagg gtcttgagtg gattggacag atttatcctg gagatgggtga tactcactac
180
aatggaaagt tcaagggcaa agccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac
240
atgcagctca gcaggctaac atctgaggac tctgcggtct atttctgttc aagttcaaac
300
tgggtcggga gttactgggg ccaagggact ctggtcaccg tctcctca
348

<210> 19
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người VH1

<400> 19
cagggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag ctgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagatt
60
tcctgcaagt cttctggata tgcattcagc agctattgga tgaactgggt gaagcagagg
120
cctggacaag ggcttgagtg gattggacag atctatcctg gagatgggtga tactcactac
180
aatggaaagt tcaagggcaa agccacgctg accgcggaca aatccacgag cacagcctac
240
atggagctga gcagcctgac atctgaggac tctgccgtgt atttctgttc aagttcaaac
300
tgggtcggga gttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctca
348

<210> 20
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người VH2

<400> 20
 caggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagatt
 60
 tcctgcaagt cttctggata tgcattcagc agctattgga tgaactgggt gaagcagagg
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gattggacag atctatcctg gagatgggtga tactcactac
 180
 aatggaaagt tcaagggcaa agccacgctg accgcggaca aatccacgag cacagcctac
 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt atttctgttc aagttcaaac
 300
 tgggtcggga gttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctca
 348

<210> 21
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người VH3

<400> 21
 caggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggt
 60
 tcctgcaagt cttctggata tgcattcagc agctattgga tgaactgggt ggcacagagg
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gattggacag atctatcctg gagatgggtga tactcactac
 180
 aatggaaagt tcaagggcaa agccacgctg accgcggaca aatccacgag cacagcctac
 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt atttctgttc aagttcaaac
 300
 tgggtcggga gttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctca
 348

<210> 22
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người VH4

<400> 22
caggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggt

60

tcctgcaagt cttctggata tgcattcagc agctattgga tgaactgggt gcgacagagg

120

cctggacaag ggcttgagtg gattggacag atctatcctg gagatgggtga tactcactac

180

aatggaaaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac

240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt atttctgttc aagttcaaac

300

tgggtcggga gttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctca

348

<210> 23

<211> 348

<212> ADN

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng được làm cho giống người VH5

<400> 23

caggtccagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggt

60

tcctgcaagt cttctggata tgcattcagc agctattgga tgaactgggt gcgacagagg

120

cctggacaag ggcttgagtg gattggacag atctatcctg gagatgggtga tactcactac

180

aatggaaaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac

240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgttc aagttcaaac

300

tgggtcggga gttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctca

348

<210> 24

<211> 336

<212> ADN

<213> Mus musculus

<400> 24

gatgttgtga tgaccagac tccactcact ttgtcgggta ccattggaca aacagcctcc

60

atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gaaagtgatg gaaagacata tttgaattgg

120

ttgtcacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaactct atctgggtgc tagactggac

180

240 tctggagtcc ctgacagggt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc
 300 agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattggt ggcaaggcac acatcttcct
 336 cagacgttcg gtggaggcac caagctggag atcaaa

<210> 25
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người VK1

60 <400> 25
 gatgttgatga tgactcagtc tccactcact ctgtcgggtca cccttggaca gccggcctcc
 120 atctcctgca agtctagtca aagcctctta gaaagtgatg gaaagaccta cttgaattgg
 180 ttgcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgcctaattt atctggtttc tagactggac
 240 tctgggggtcc cagacagatt cactggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc
 300 agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgct ggcaaggcac acatcttcct
 336 cagacttttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa

<210> 26
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người VK2

60 <400> 26
 gatgttgatga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc
 120 atctcctgca agtctagtca aagcctctta gaaagtgatg gaaagaccta cttgaattgg
 180 ttgcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgcctaattt atctggtttc tagactggac
 240 tctgggggtcc cagacagatt cactggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc
 300 agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgct ggcaaggcac acatcttcct
 336 cagacttttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa

<210> 27
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người VK3

<400> 27
 gatgttgatga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc

60

atctcctgca agtctagtca aagcctctta gaaagtgatg gaaagaccta cttgaattgg

120

ttgcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgcctaattt atctggtttc tagactggac

180

tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc

240

agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgct ggcaaggcac acatcttcct

300

cagactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa

336

<210> 28
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm cho giống người VK4

<400> 28
 gatgttgatga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc

60

atctcctgca agtctagtca aagcctctta gaaagtgatg gaaagaccta cttgaattgg

120

tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgcctaattt atctggtttc tagactggac

180

tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc

240

agcaggggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgct ggcaaggcac acatcttcct

300

cagactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa

336

<210> 29
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29

Pro Glu Lys Asp Ser Arg Val Ser Val Thr Lys Pro Phe Met Leu Pro
 1 5 10 15

Pro Val Ala Ala Ser Ser Leu Arg Asn Asp Ser Ser Ser Ser Asn Arg
 20 25 30

Lys Ala Lys Asn Pro Pro Gly Asp
 35 40

<210> 30
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30

Ala Ser Ser Leu Arg Asn Asp Ser Ser Ser Ser Asn Arg Lys Ala Lys
 1 5 10 15

Asn Pro Pro Gly Asp
 20

<210> 31
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 31

Ser Ser Asn Arg Lys Ala Lys Asn
 1 5

<210> 32
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32

Ser Ser Ser Ser Asn Arg Lys Ala Lys Asn Pro Pro Gly Asp
 1 5 10

<210> 33
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33

Ala Ser Ser Leu Arg Asn Asp Ser Ser Ser Ser Asn Arg Lys
 1 5 10

<210> 34
 <211> 29
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Asp Ser Arg Val Ser Val Thr Lys Pro Phe Met Leu Pro Pro Val Ala
1 5 10 15

Ala Ser Ser Leu Arg Asn Asp Ser Ser Ser Ser Asn Arg
20 25

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Ser Asn Arg Lys Ala Lys Asn
1 5

<210> 36

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> CDR2 VH5

<400> 37

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

Gly

<210> 38

<211> 443

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng IgG4 VH0

<400> 38

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr His Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 225 230 235 240
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270
 60

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

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 39

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ Kappa VK0

<400> 39

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

Gln Thr Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 40
<211> 327
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> vùng không đổi chuỗi nặng

<400> 40

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 Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Glu 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> 41
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 42
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Chuỗi Nặng 5H10 VH1

<400> 42

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

65

275 280 285
 Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320
 Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
 340 345 350
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400
 Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
 405 410 415
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 43
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo
 <220>
 <223> Chuỗi Nặng 5H10 VH2
 <400> 43
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

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

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 210 215 220

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

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270

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

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 44
<211> 443
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Chuỗi Nặng 5H10 VH3

<400> 44

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

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

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65		70		75		80									
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ser	Ser	Ser	Asn	Trp	Val	Gly	Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
		115					120					125			
Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
	130					135					140				
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145					150					155					160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
				165					170					175	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
			180					185					190		
Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
		195					200					205			
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro
	210					215					220				
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
225					230					235					240
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
				245					250					255	
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn
			260					265					270		
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
		275				280						285			
Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
	290					295					300				
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
305					310					315					320
Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys

325

330

335

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 45

<211> 443

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Chuỗi Nặng 5H10 VH4

<400> 45

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

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

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
 210 215 220

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

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270

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

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 46

<211> 443

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Chuỗi Nặng 5H10 VH5

<400> 46

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Ser Ser Asn Trp Val Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115	120	125
Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu 130 135 140		
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly 145 150 155 160		
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser 165 170 175		
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu 180 185 190		
Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr 195 200 205		
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro 210 215 220		
Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro 225 230 235 240		
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr 245 250 255		
Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn 260 265 270		
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg 275 280 285		
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val 290 295 300		
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser 305 310 315 320		
Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys 325 330 335		
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu 340 345 350		
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe 355 360 365		
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		

370

375

380

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

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

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

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 47

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>

<223> Chuỗi Nhẹ 5H10 VK1

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 48
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Chuỗi Nhẹ 5H10 VK2

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130

135

140

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

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

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

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

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

<210> 49
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
 <223> Chuỗi Nhẹ 5H10 VK3

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 50
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình Tự Nhân Tạo

<220>
<223> Chuỗi Nhẹ 5H10 VK4

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

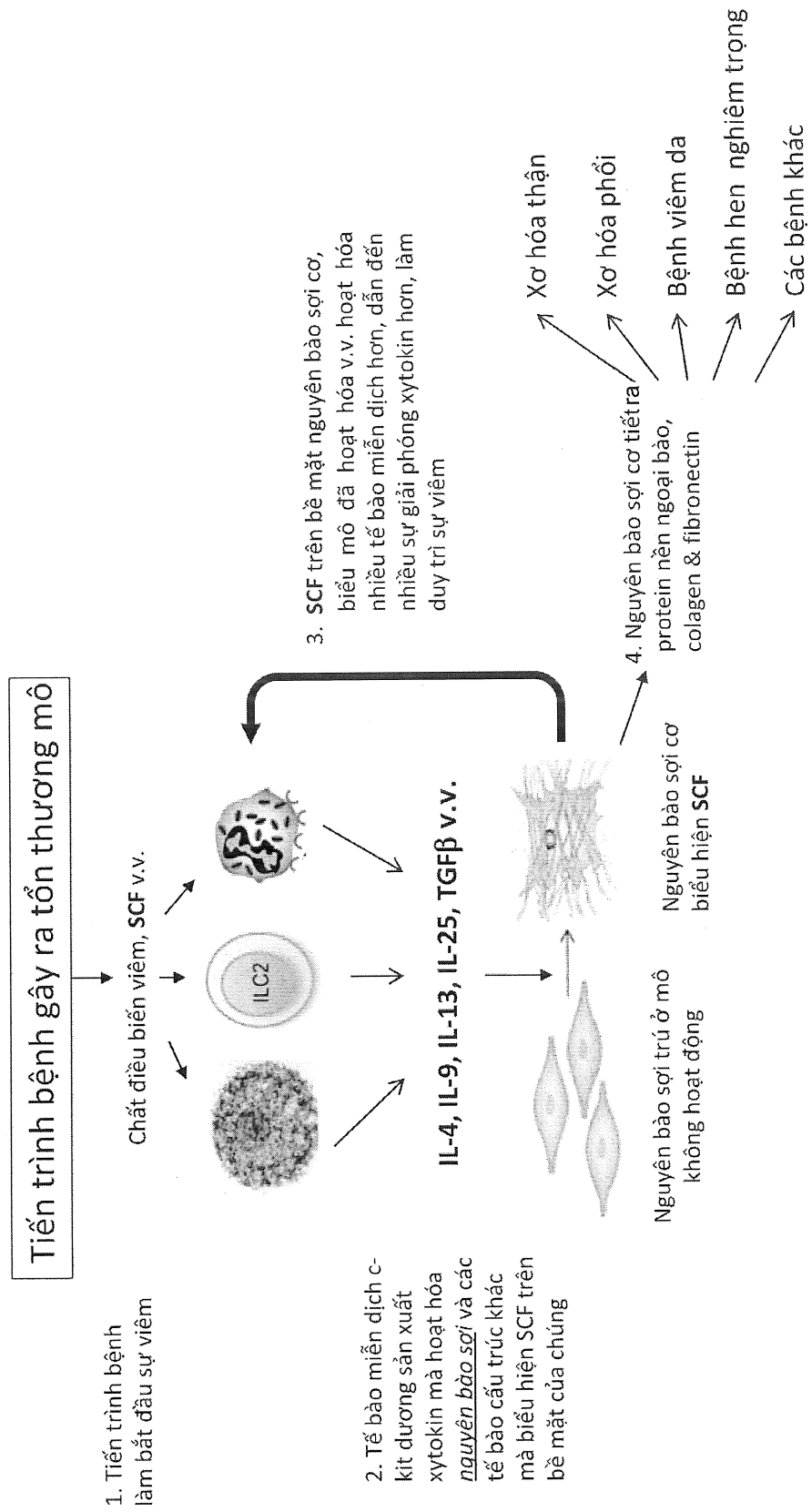
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

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

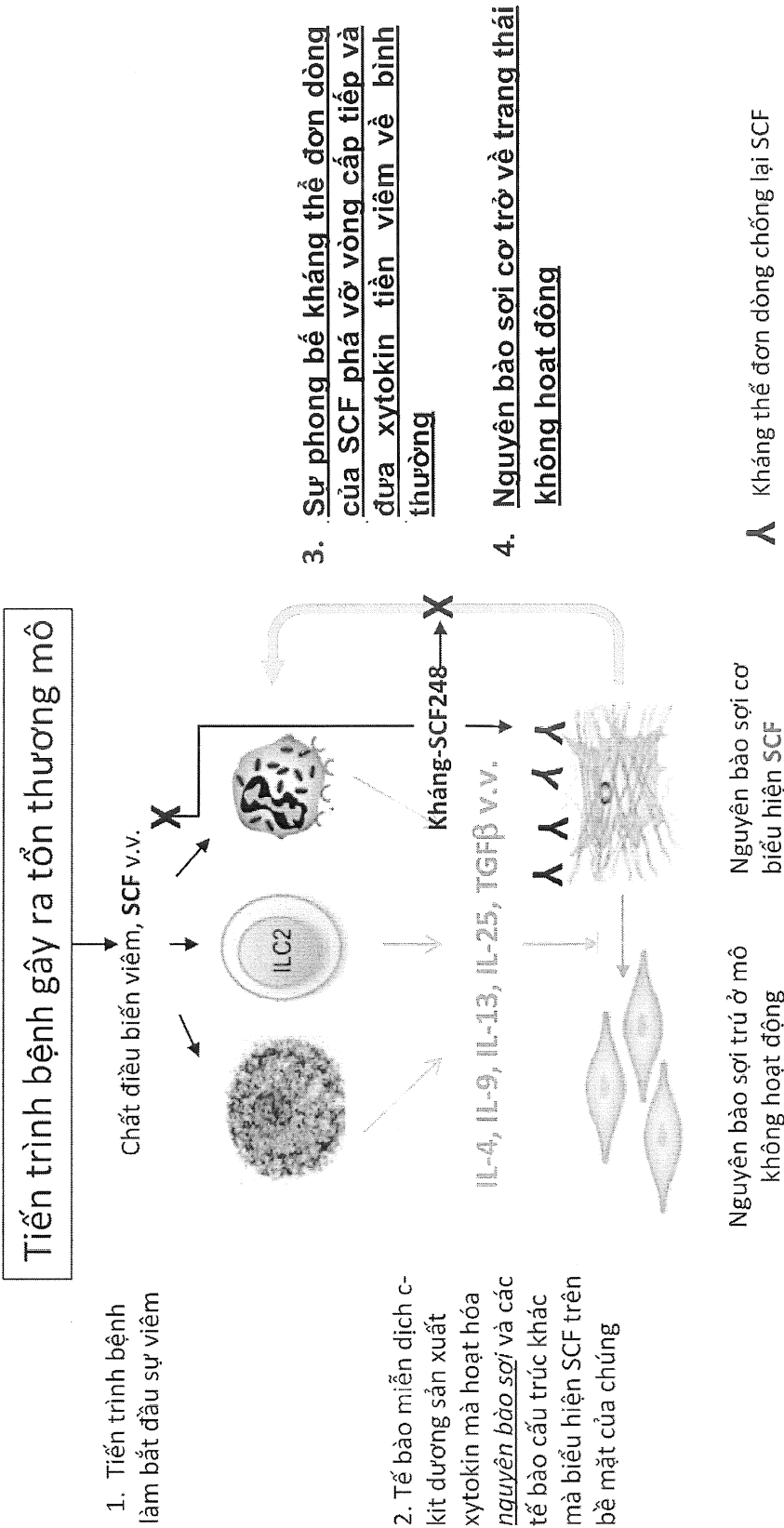
1/39

Hình 1

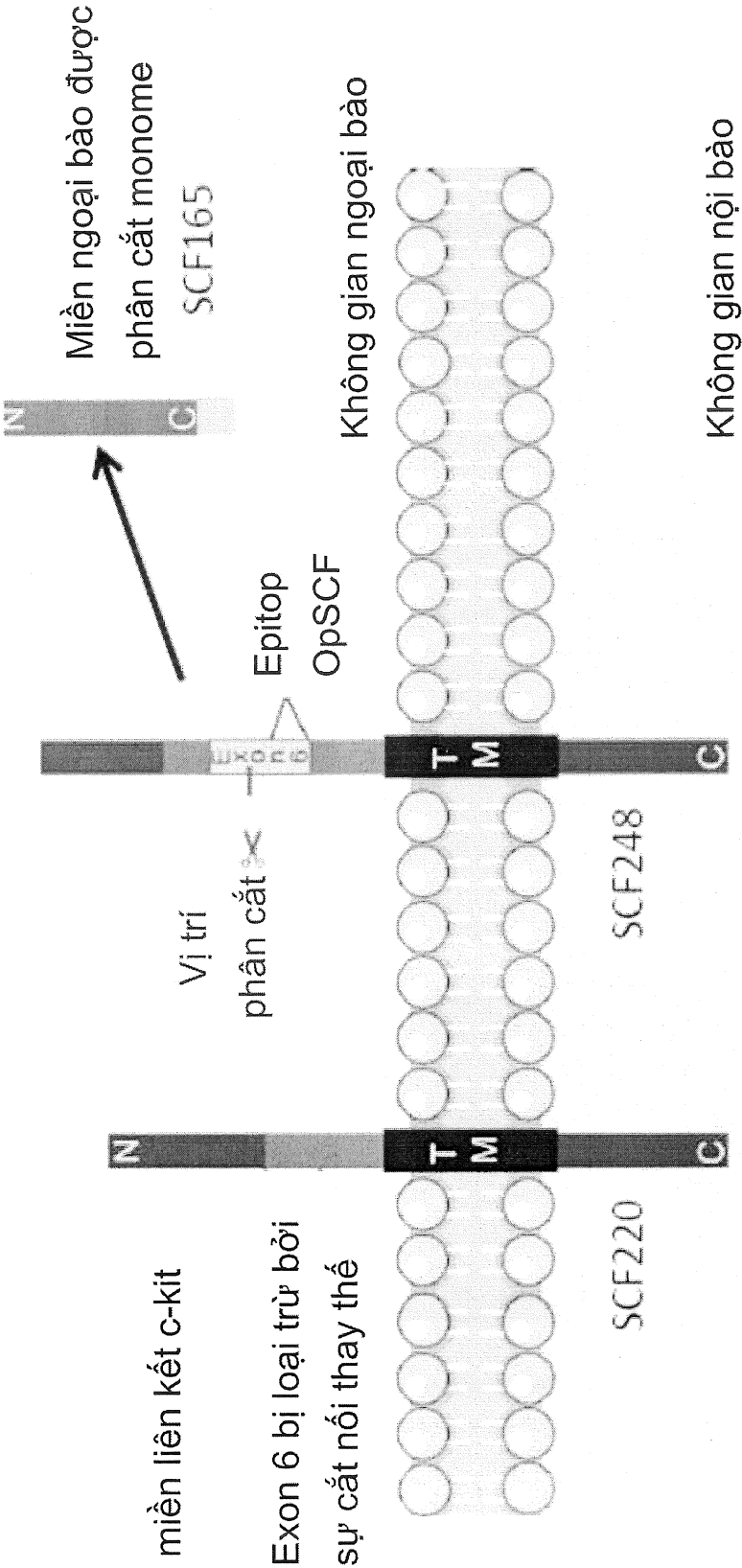
Tế Bào c-Kit⁺ Thúc Đẩy Vòng Phản Hồi Viêm Mãn Tính



Hình 2

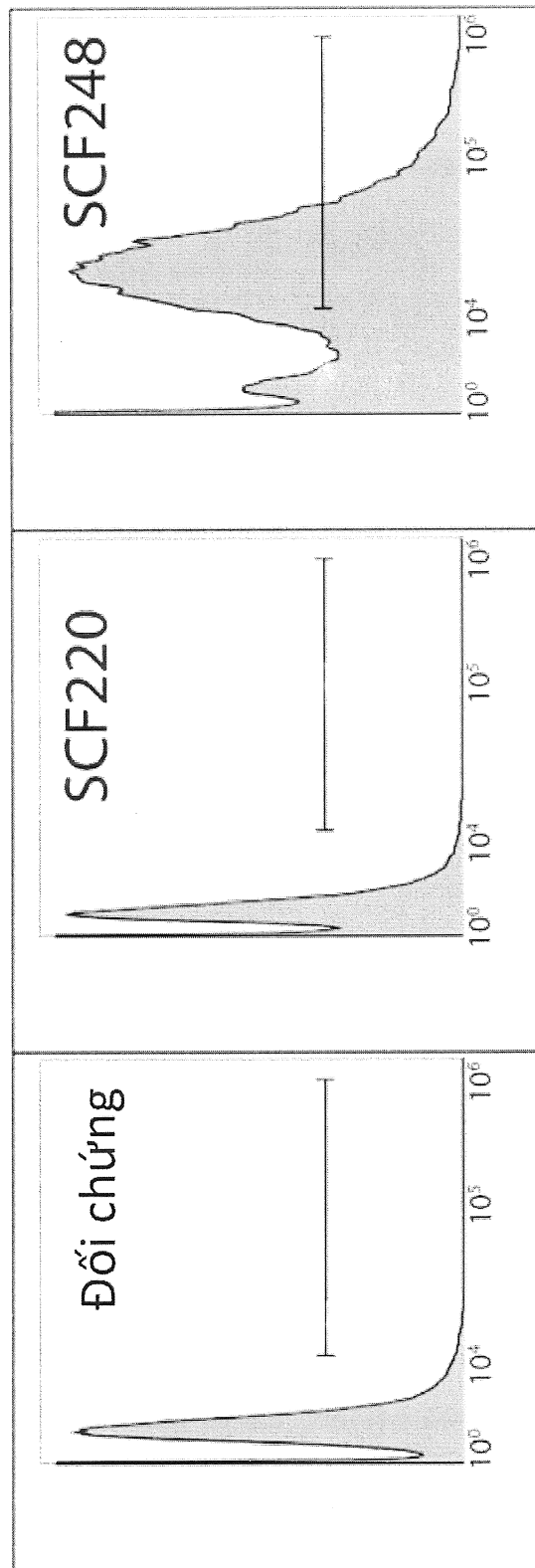


Hình 3



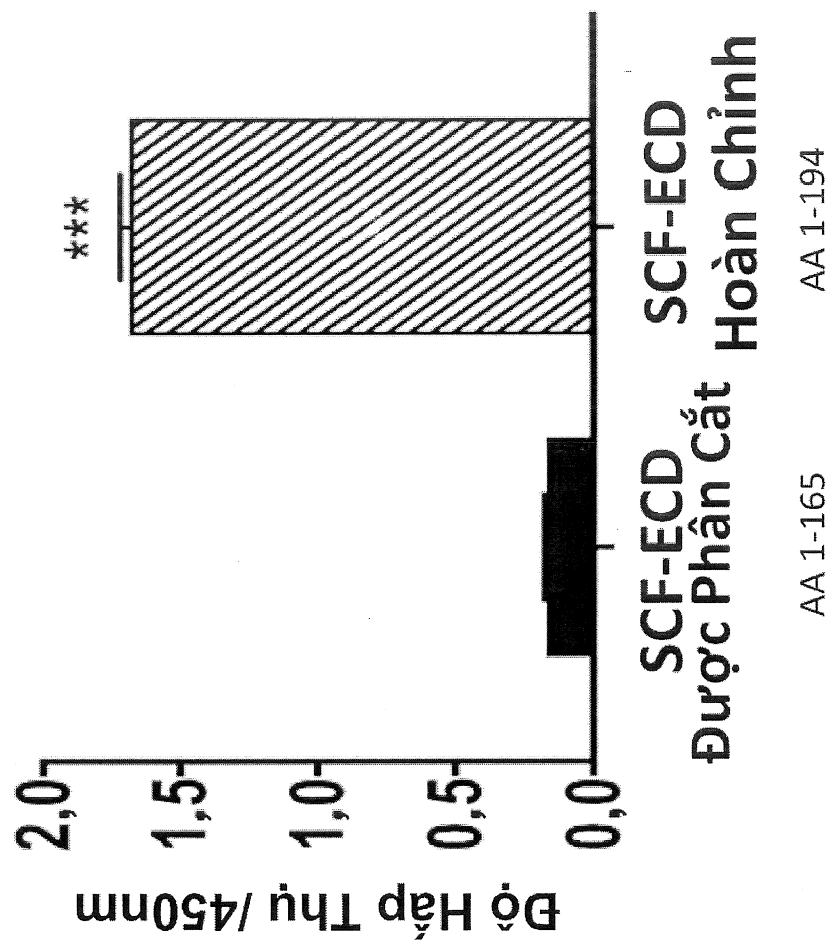
4/39

Hình 4A



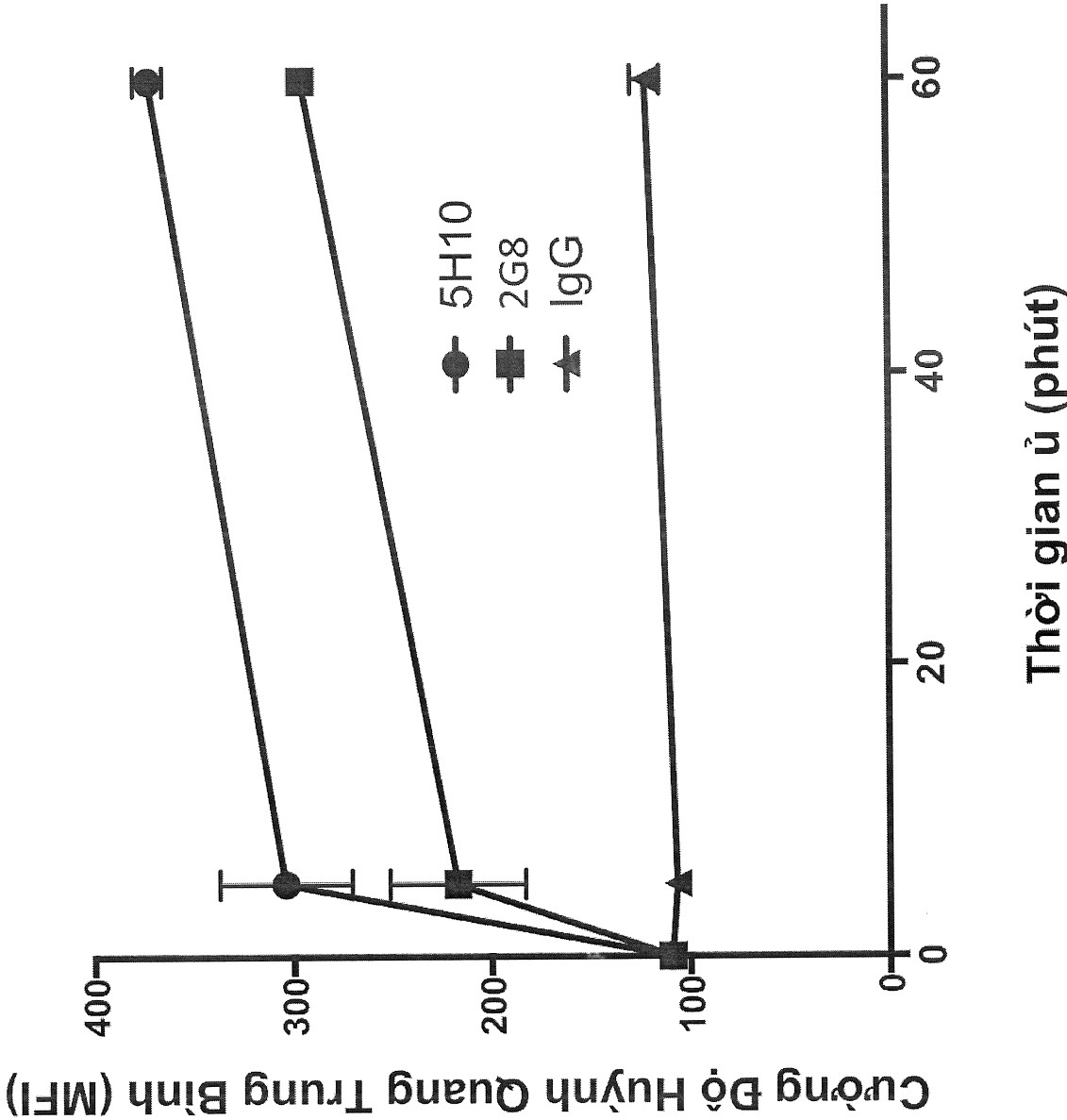
5/39

Hình 4B



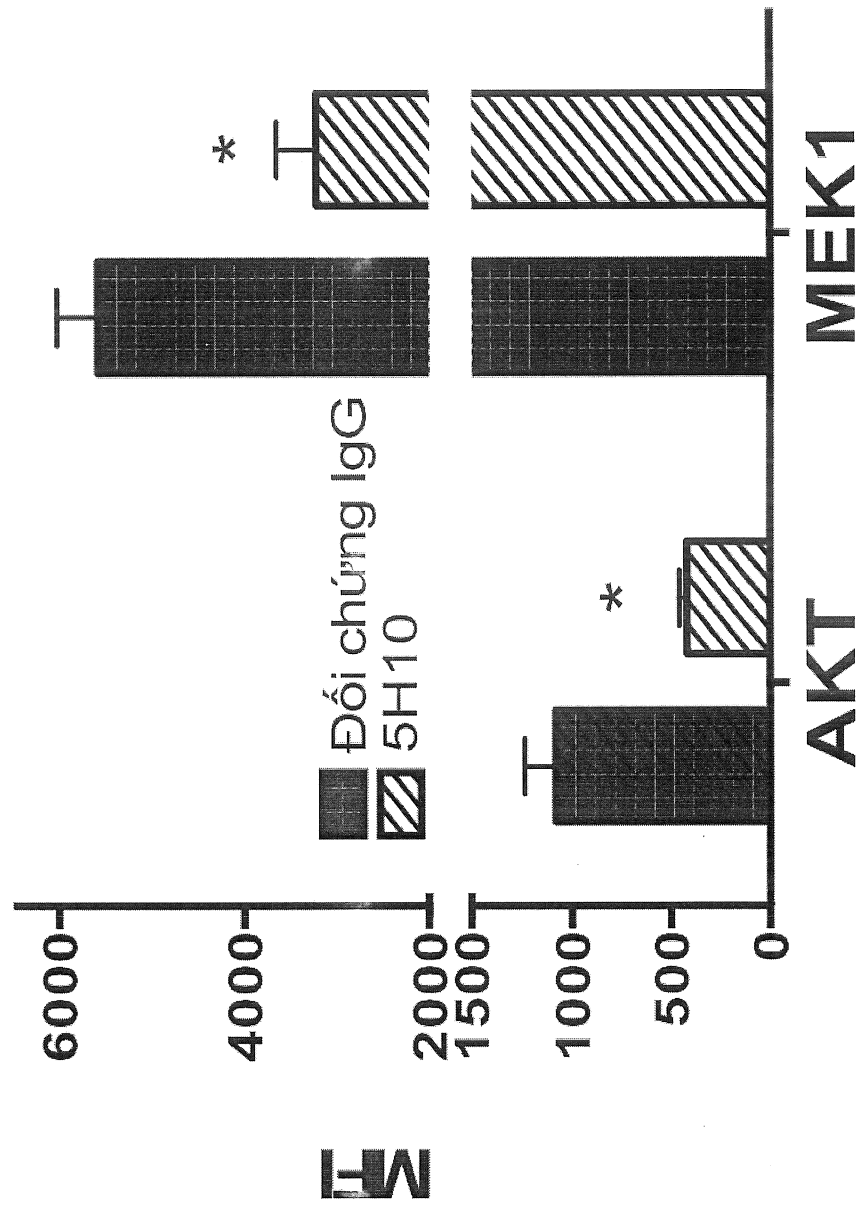
6/39

Hình 5

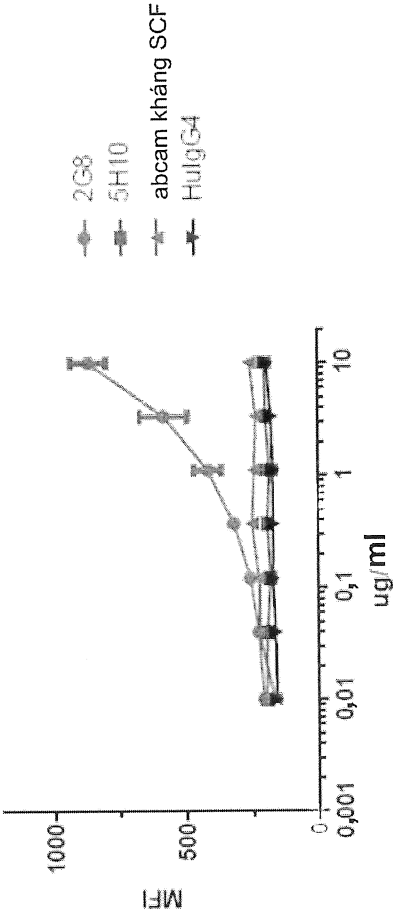


7/39

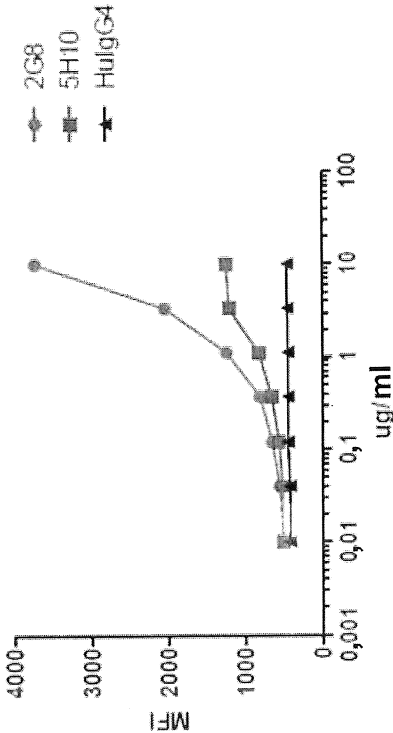
Hình 6



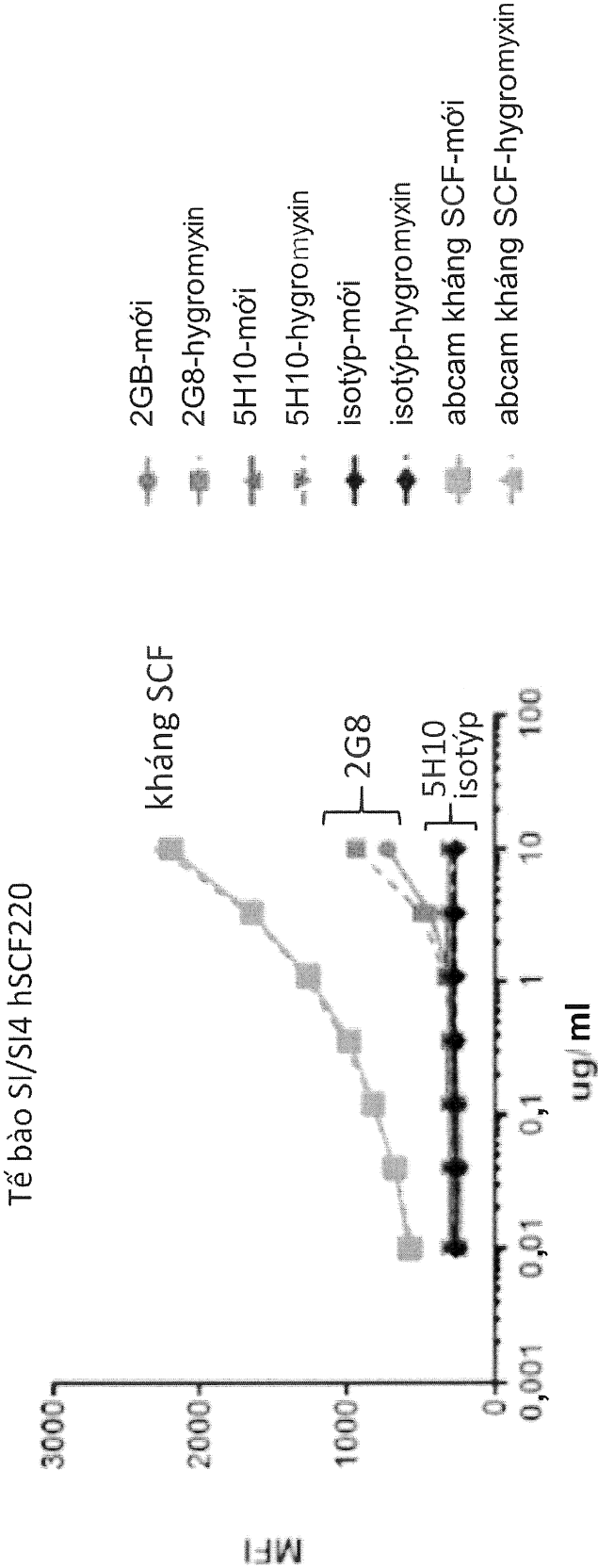
Hình 7B



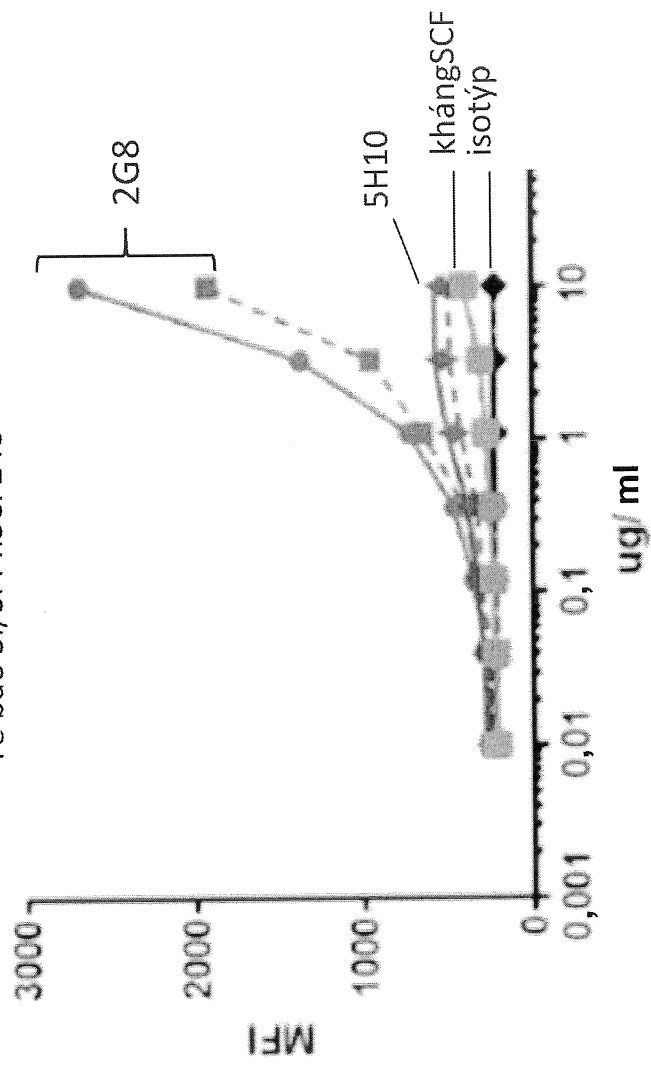
Hình 7A

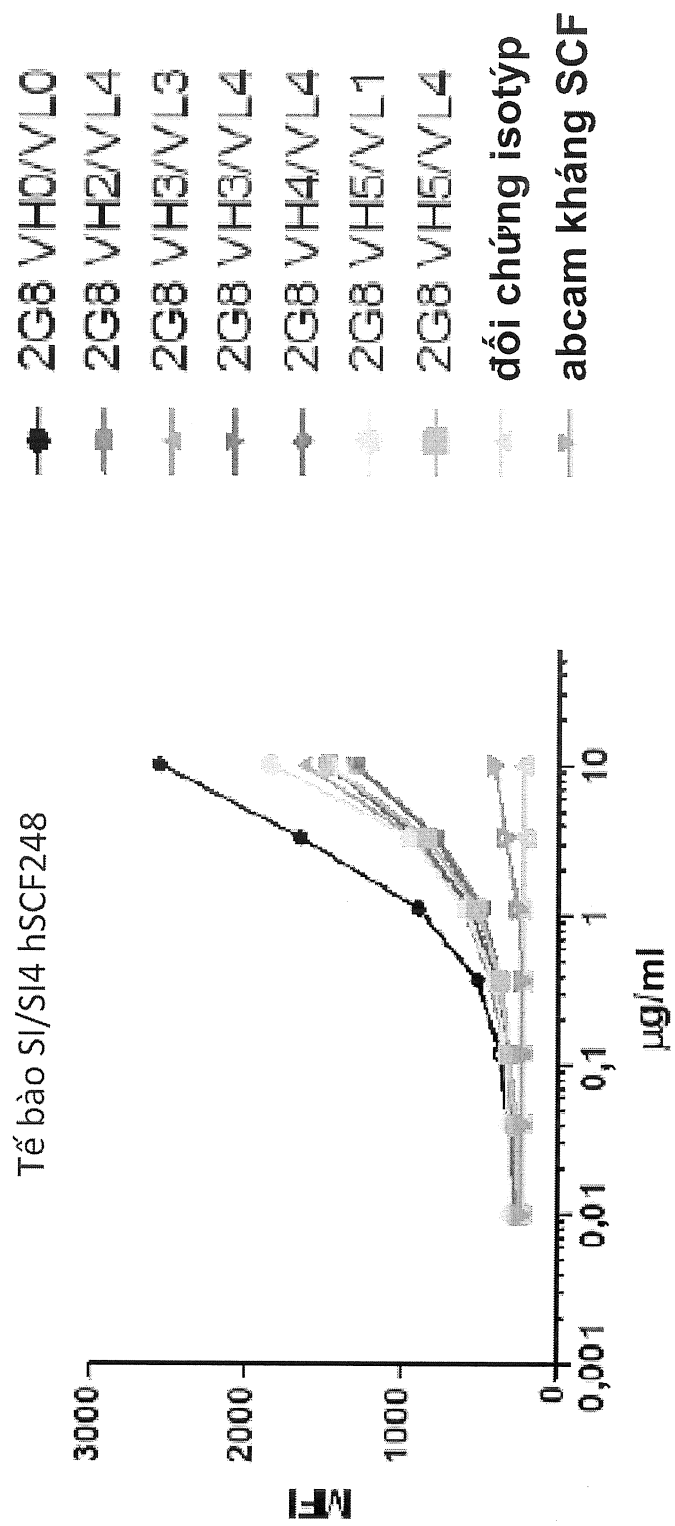


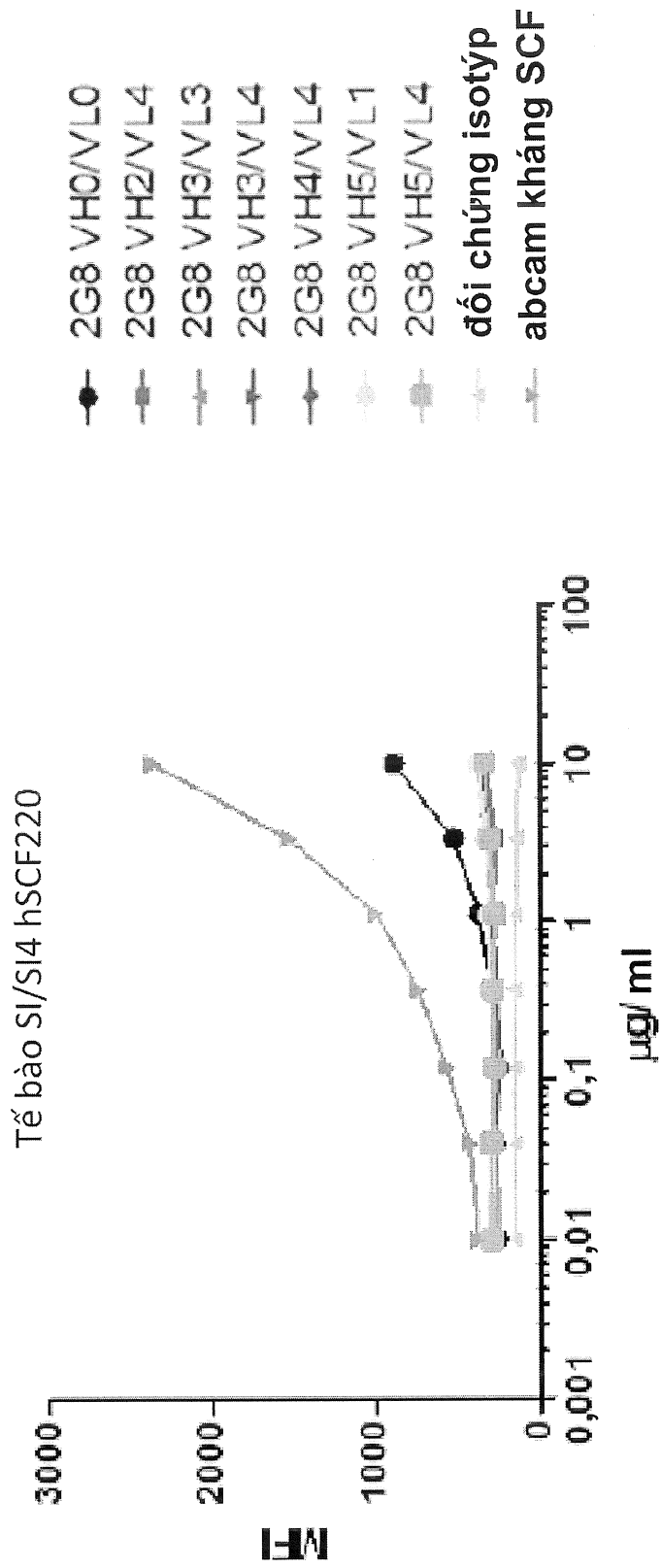
Hình 8A



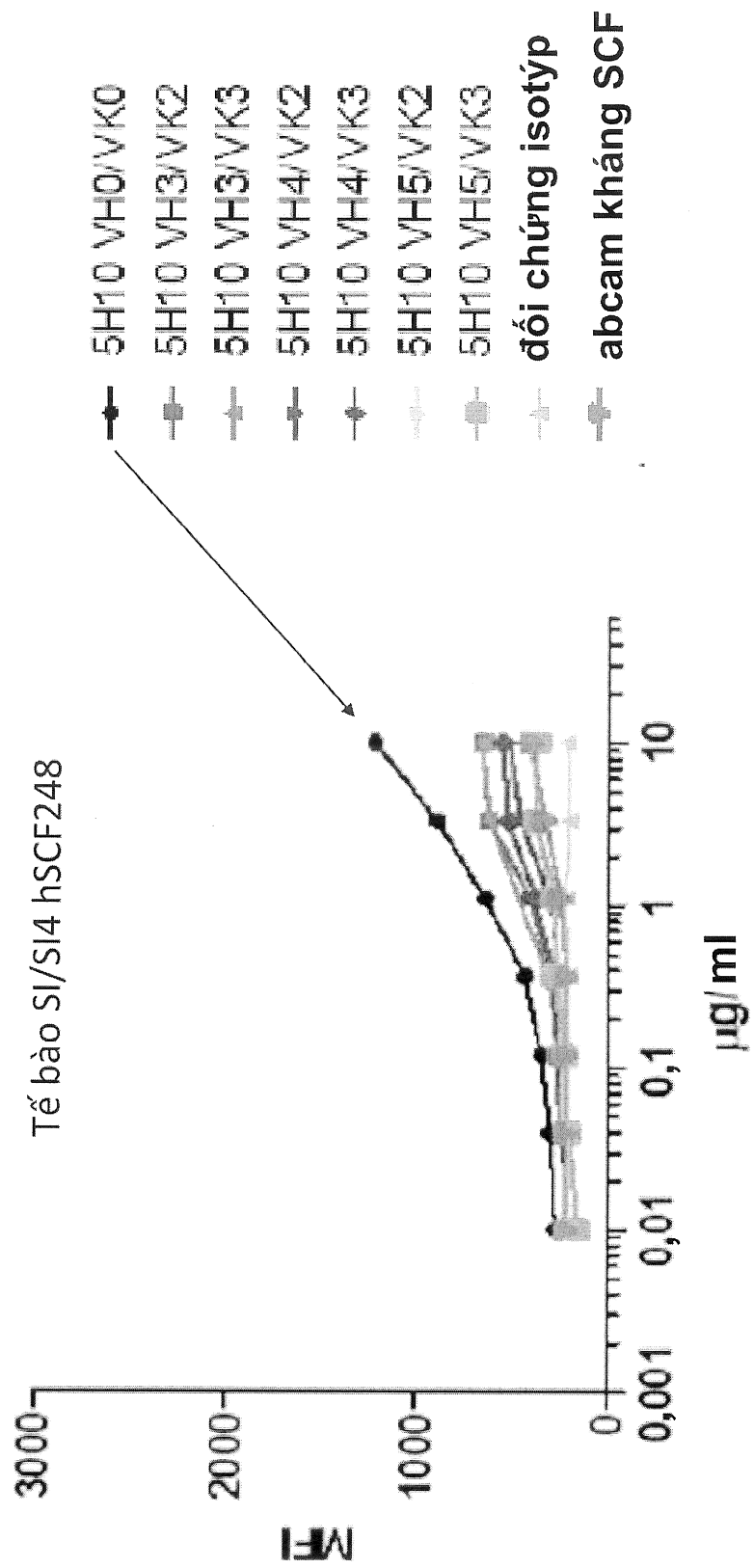
Tế bào SI/SI4 hSCF248

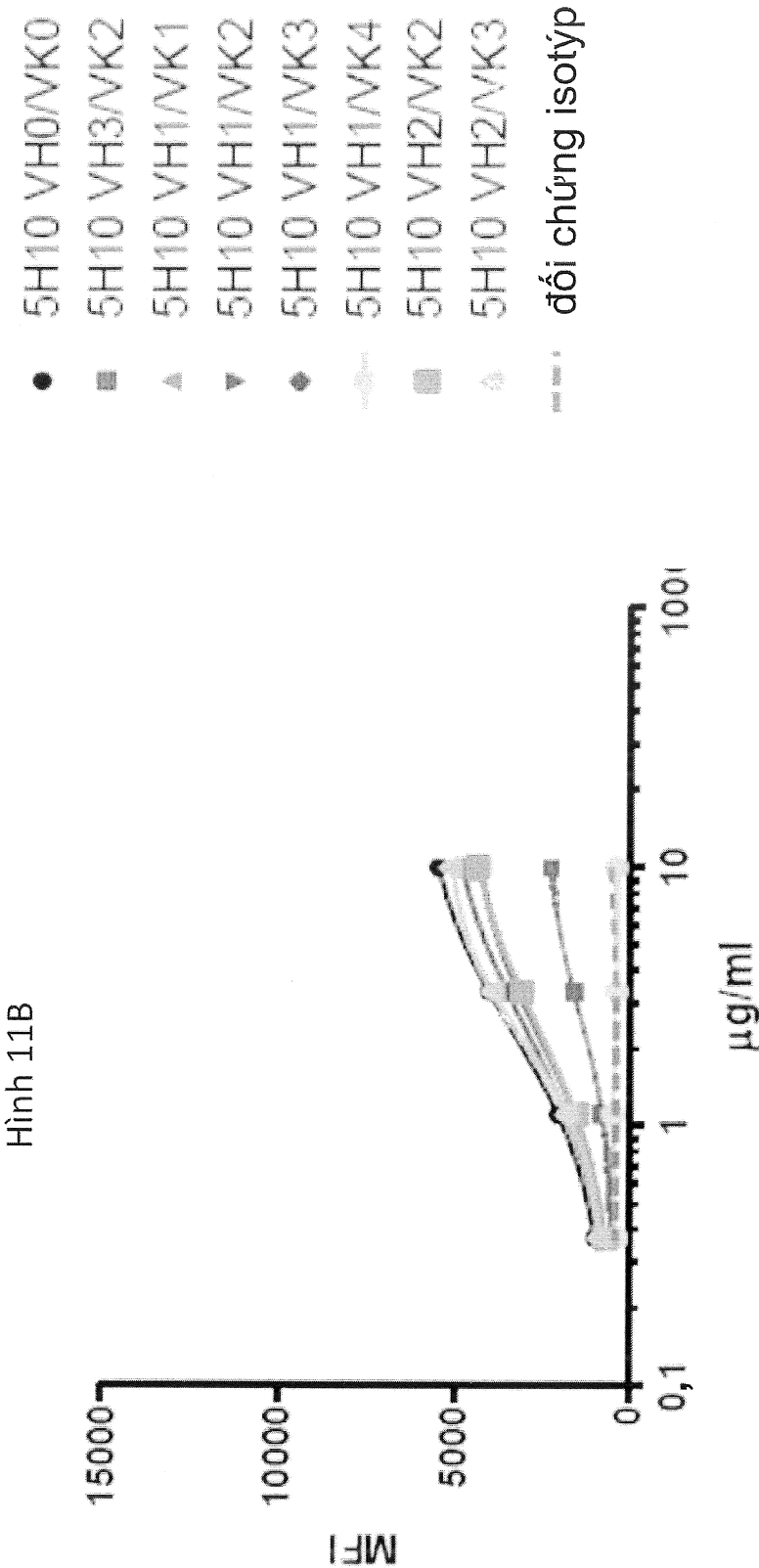






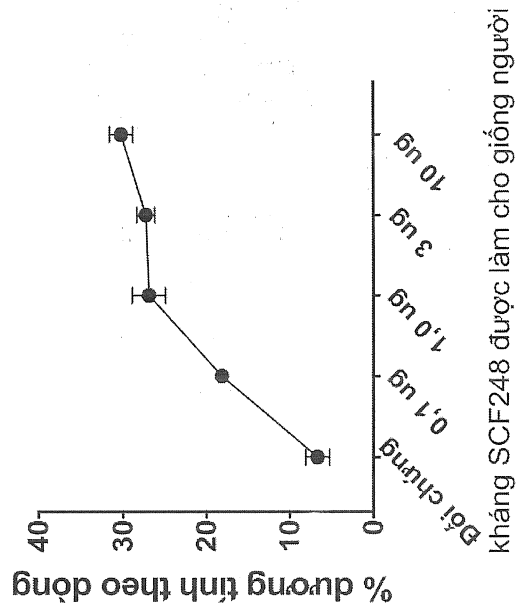
Tế bào SI/SI4 hSCF248



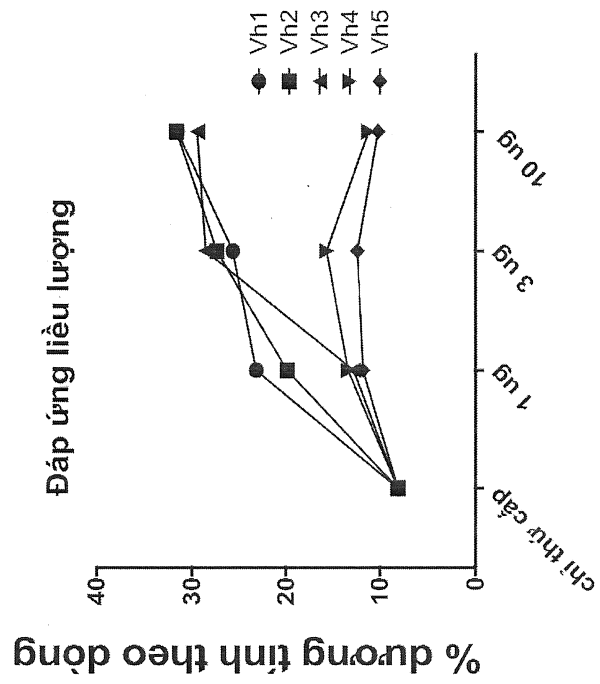


17/39

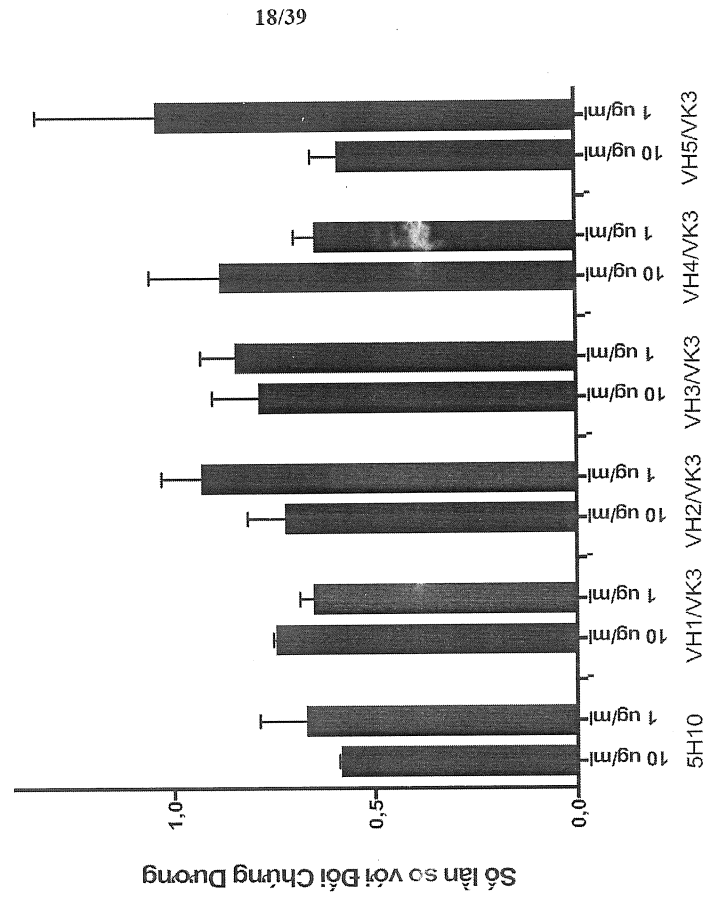
Hình 11D



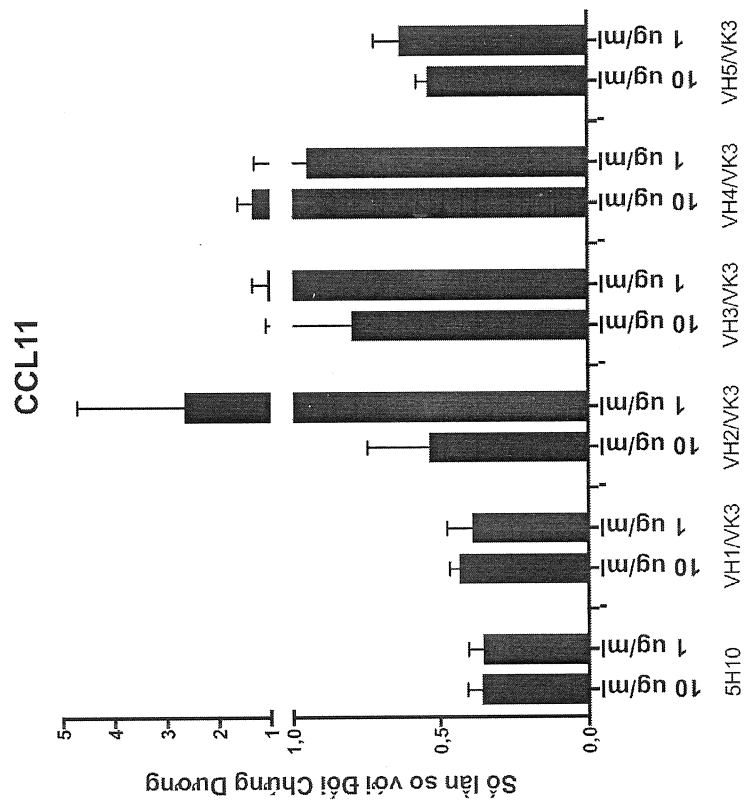
Hình 11C



Hình 12B
Colagen 1A1



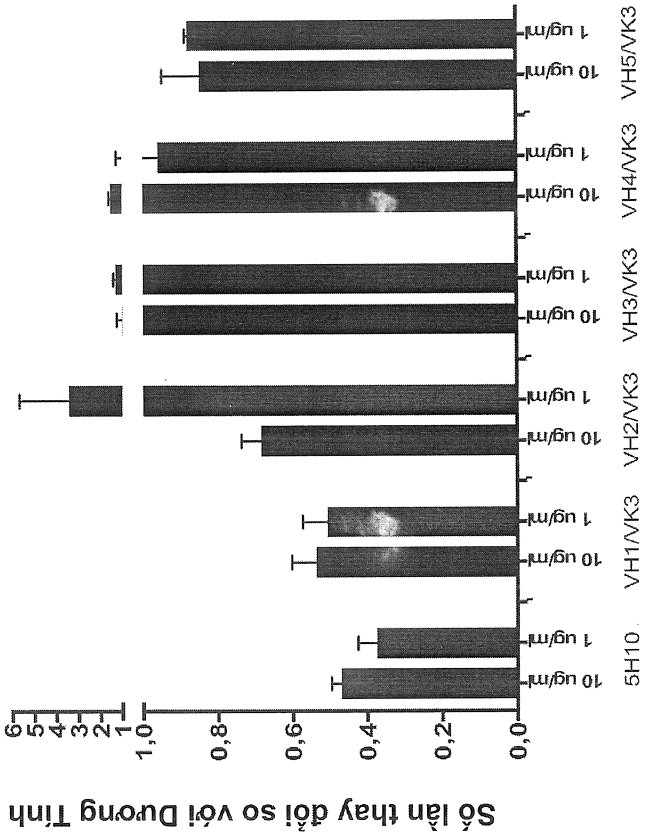
Hình 12A



19/39

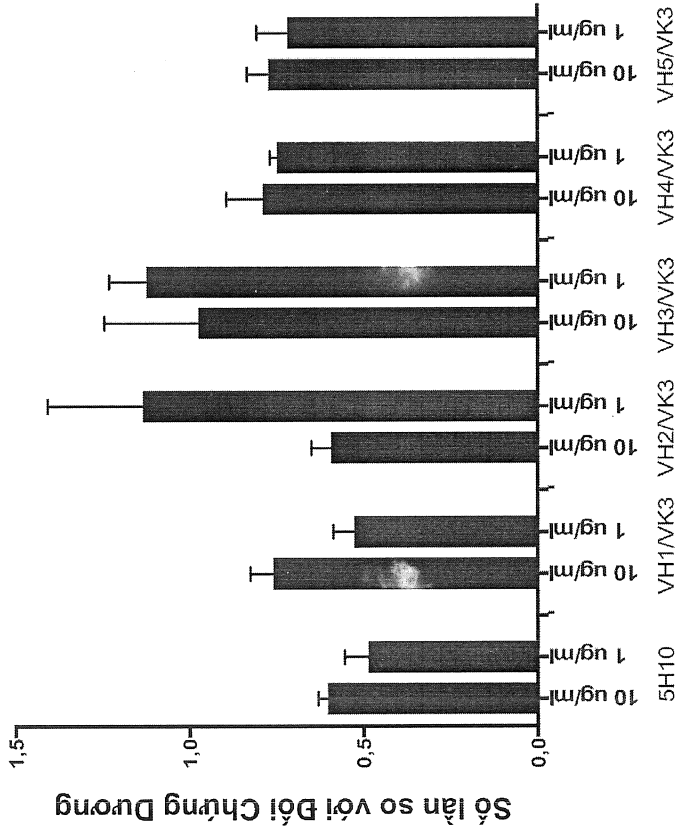
Hình 12D

Col 3



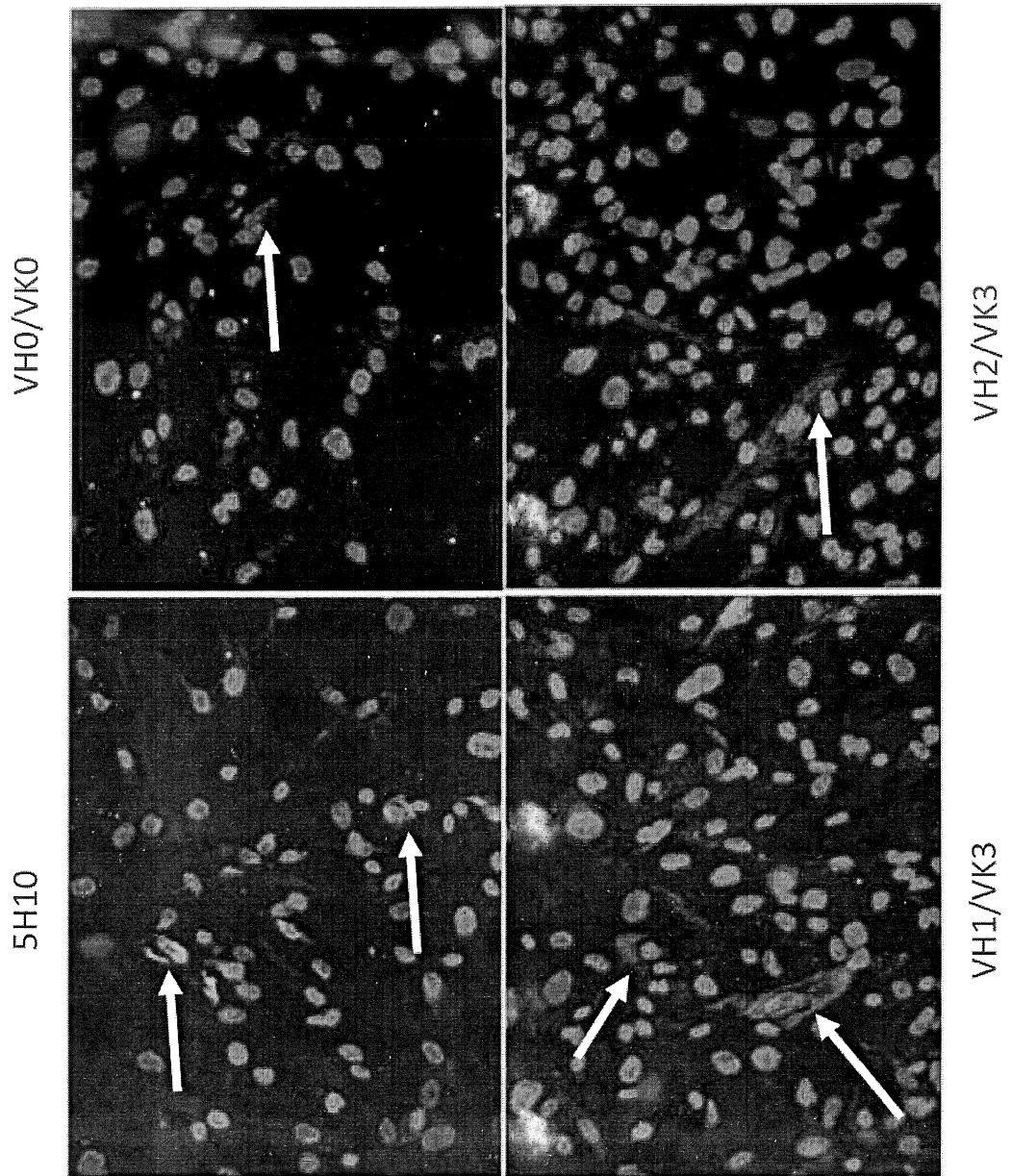
Hình 12C

Fibronectin

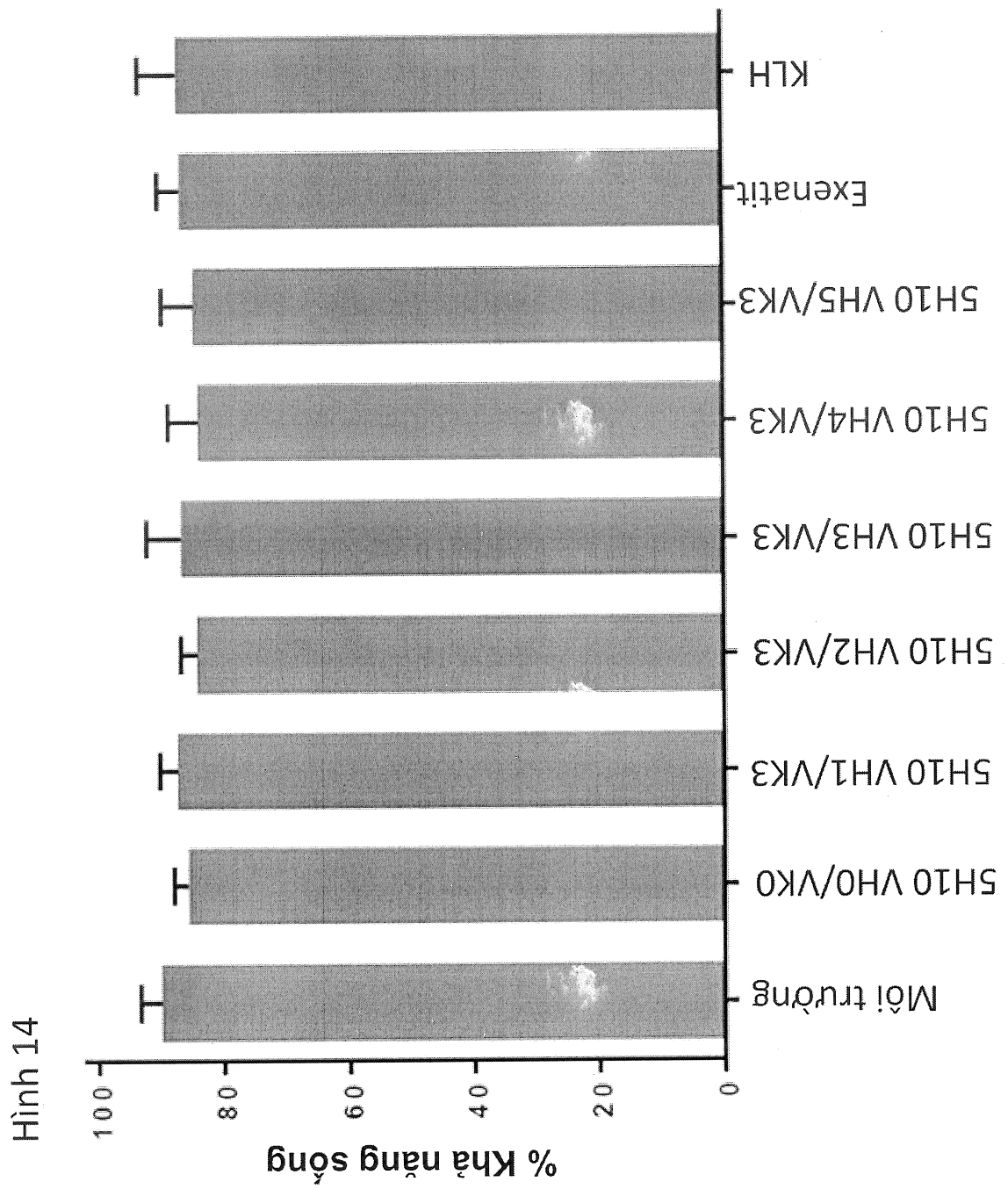


20/39

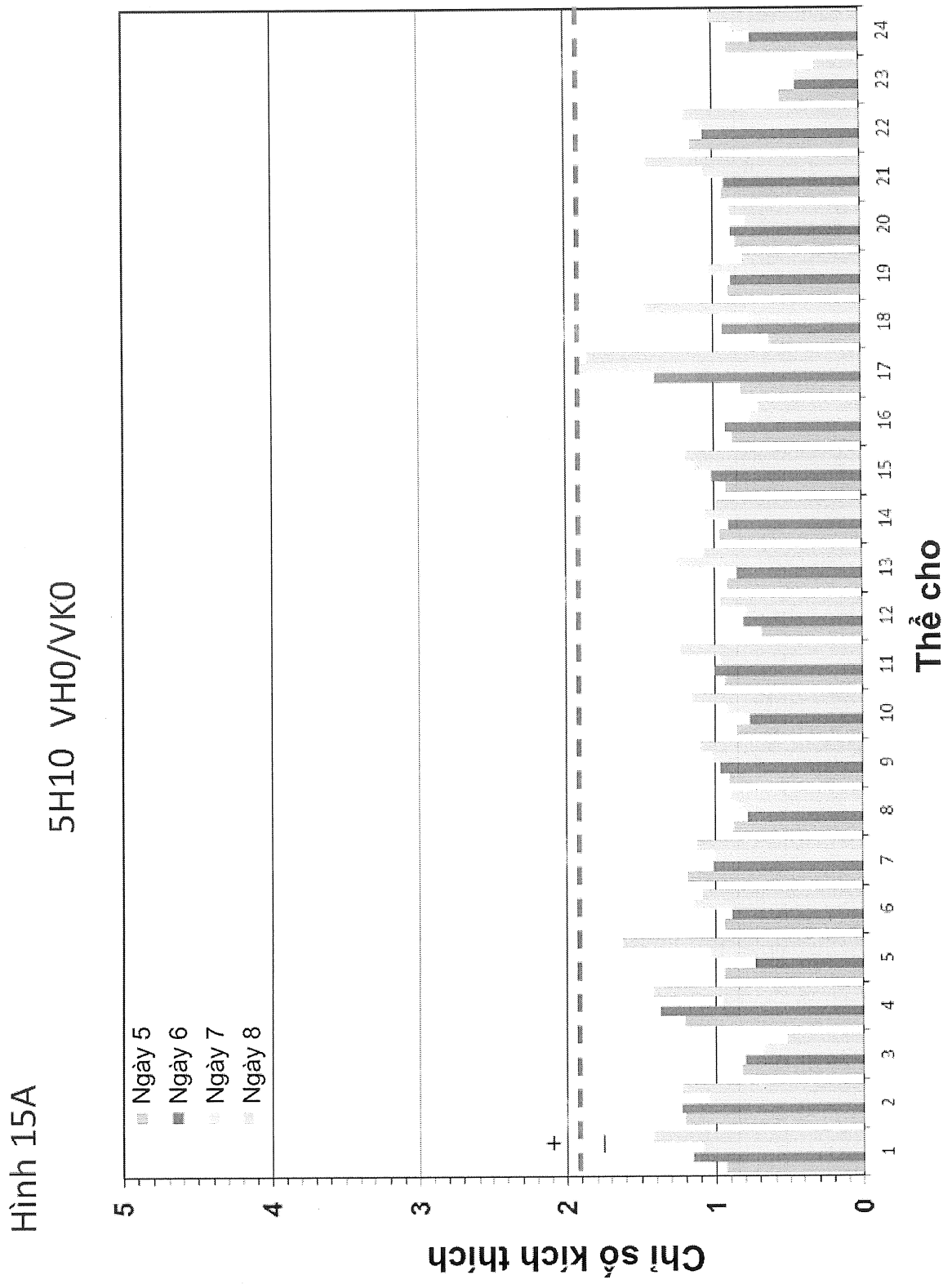
Hình 13

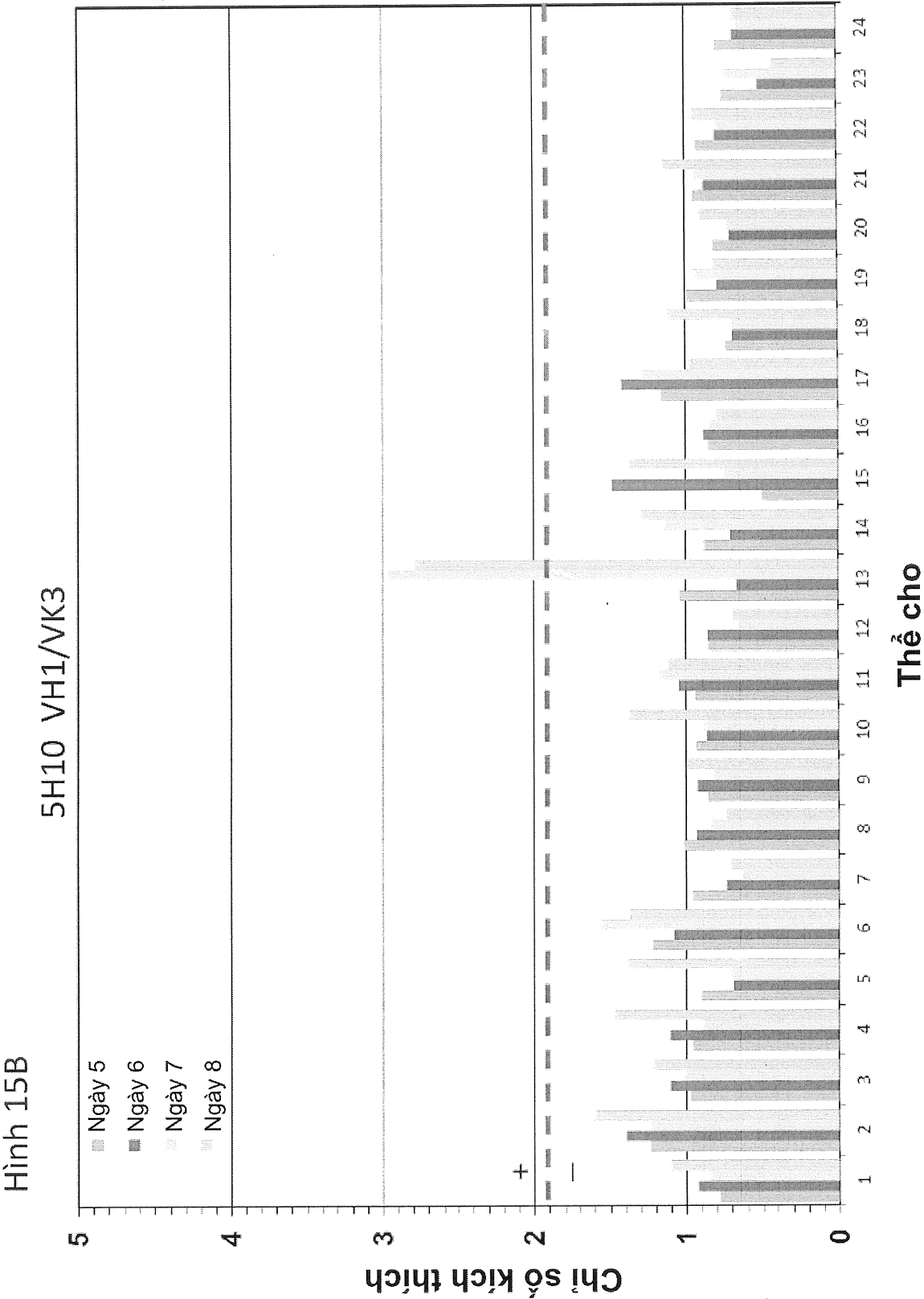


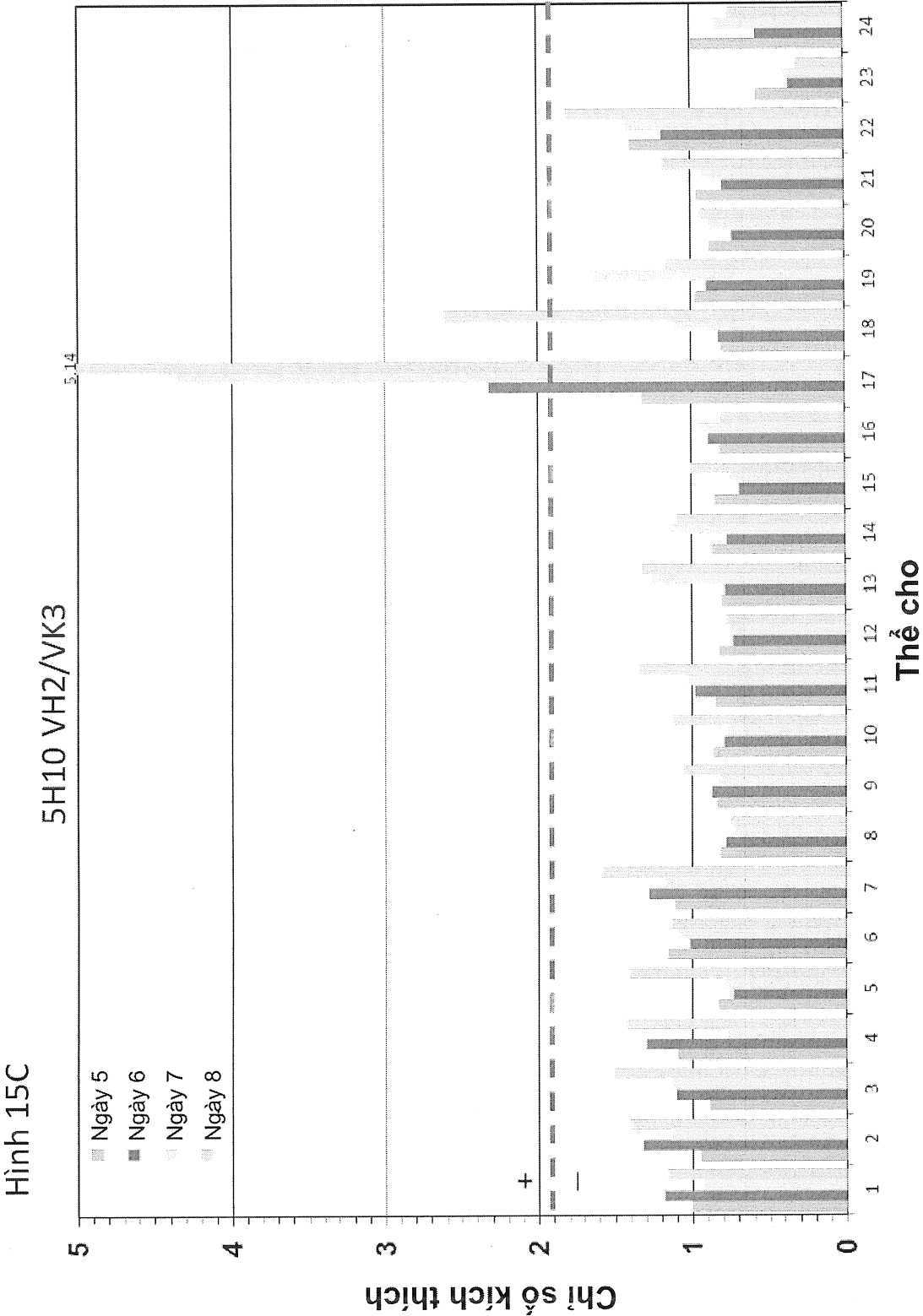
21/39



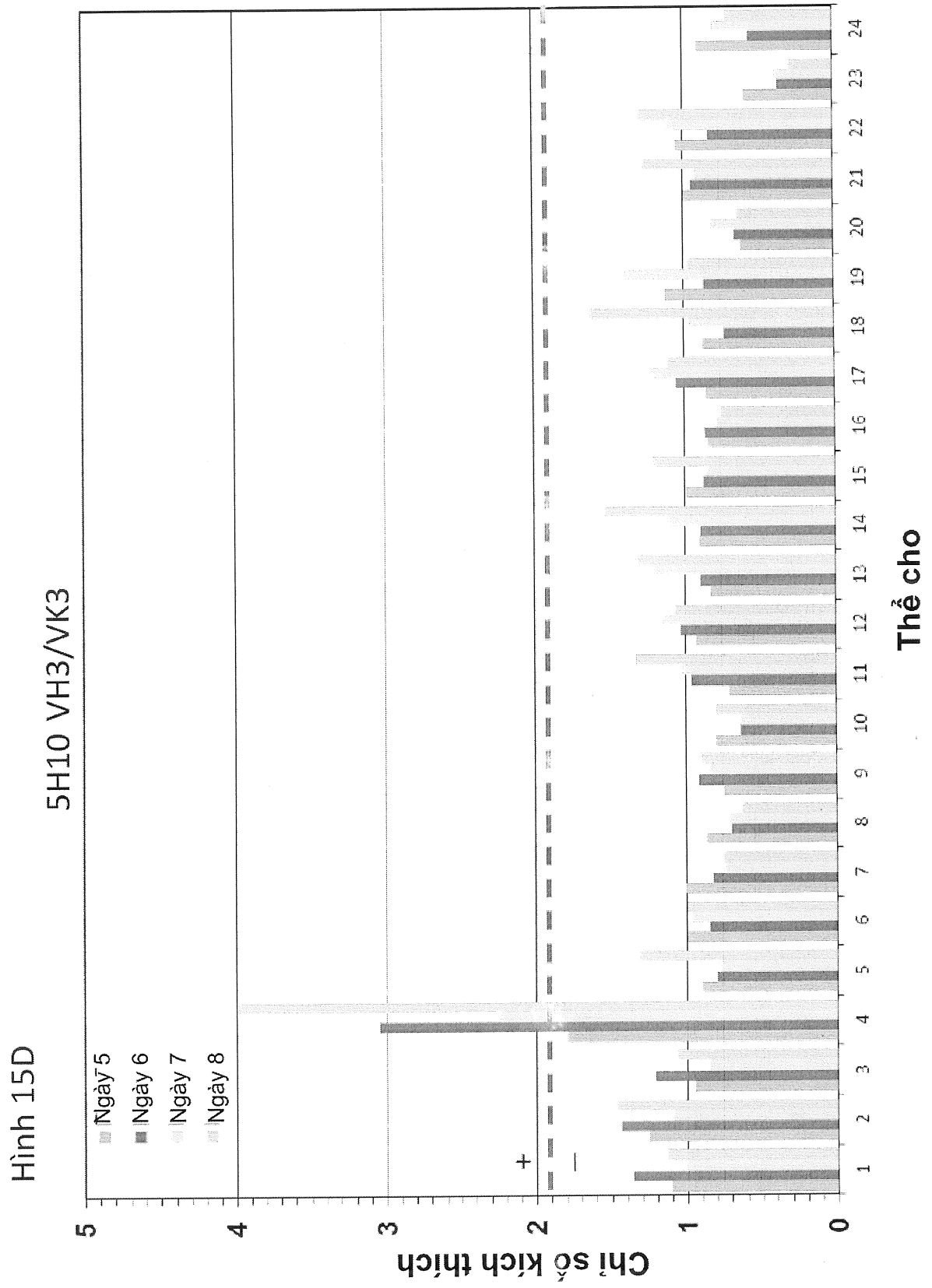
22/39



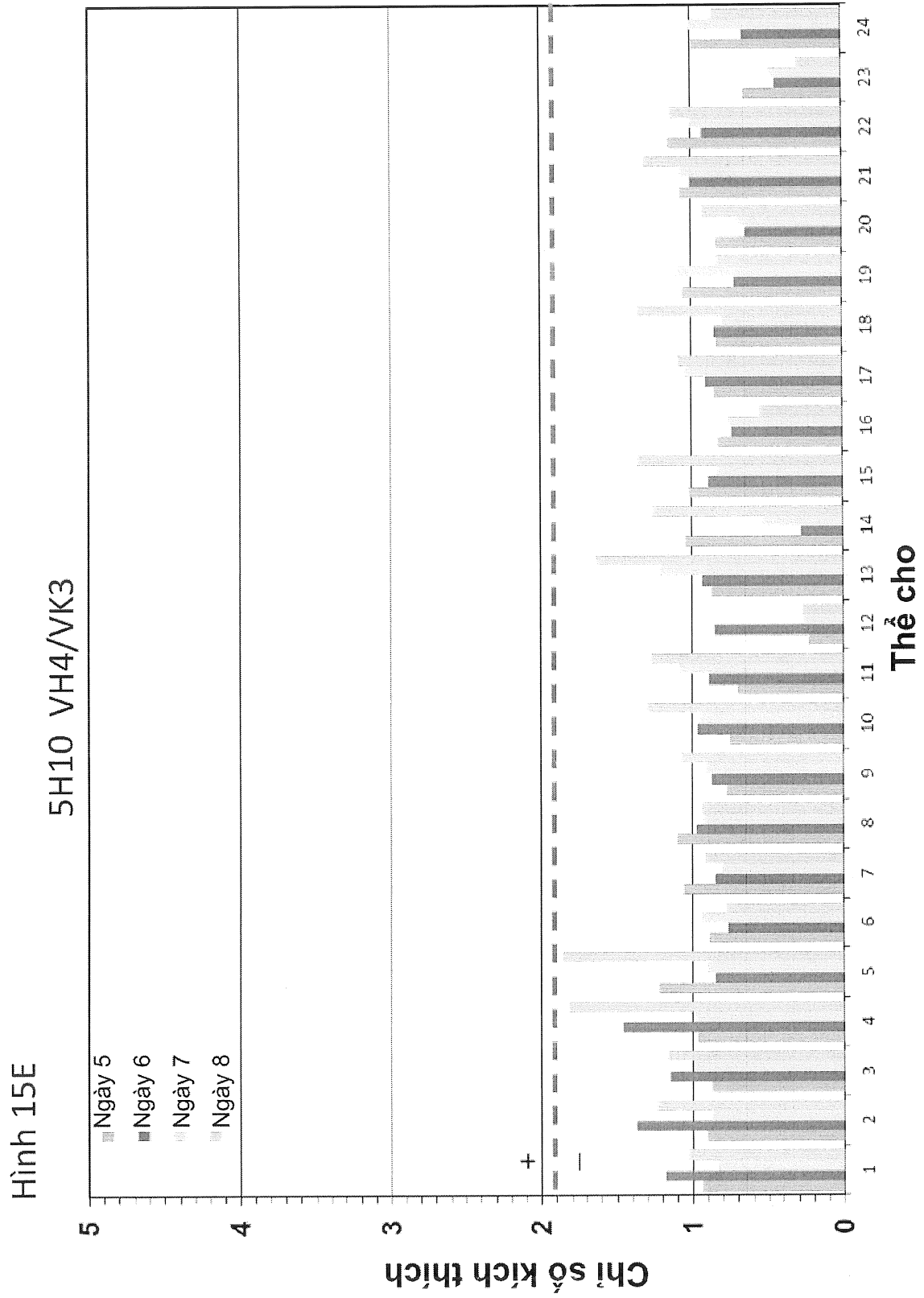




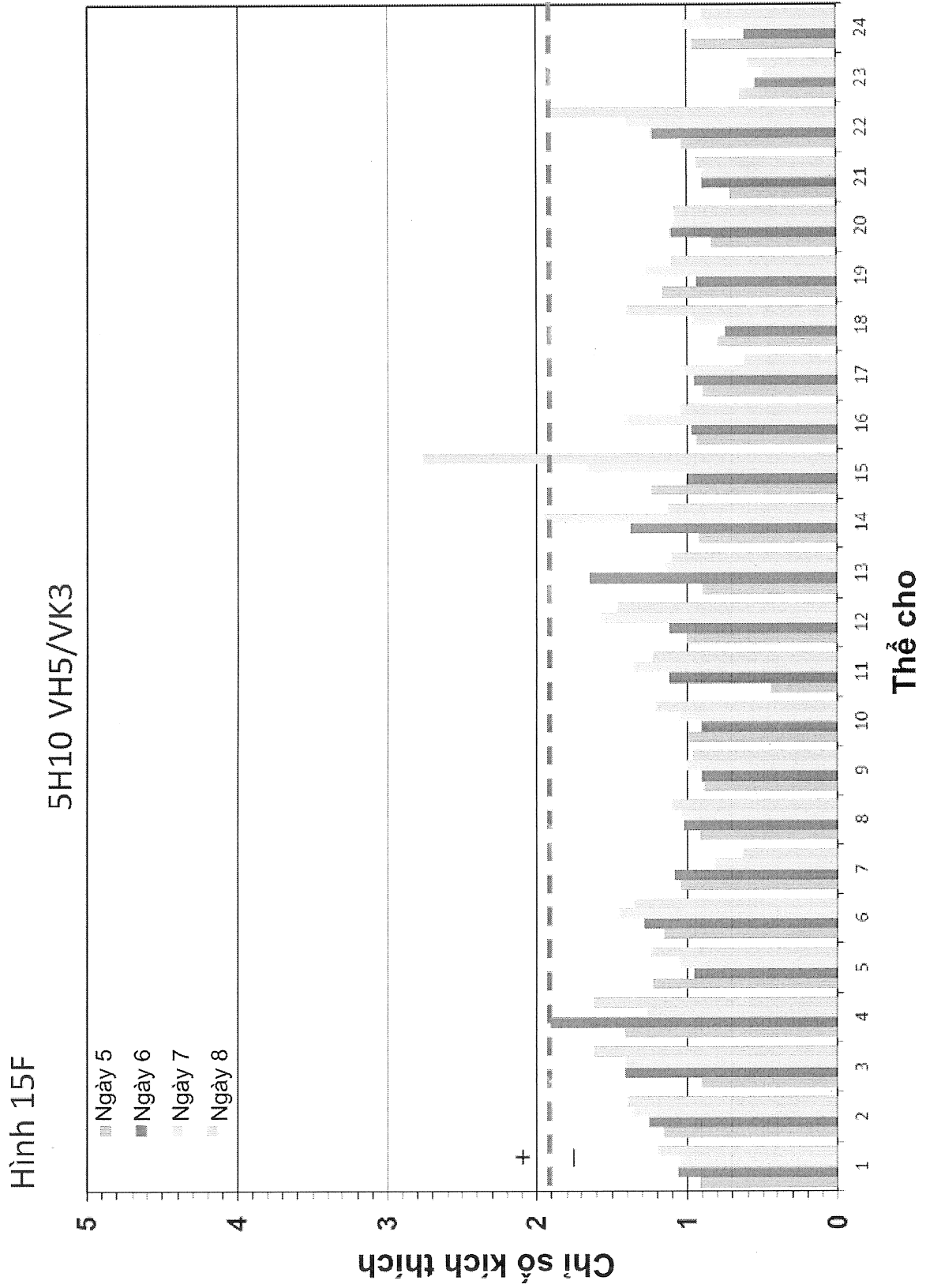
25/39



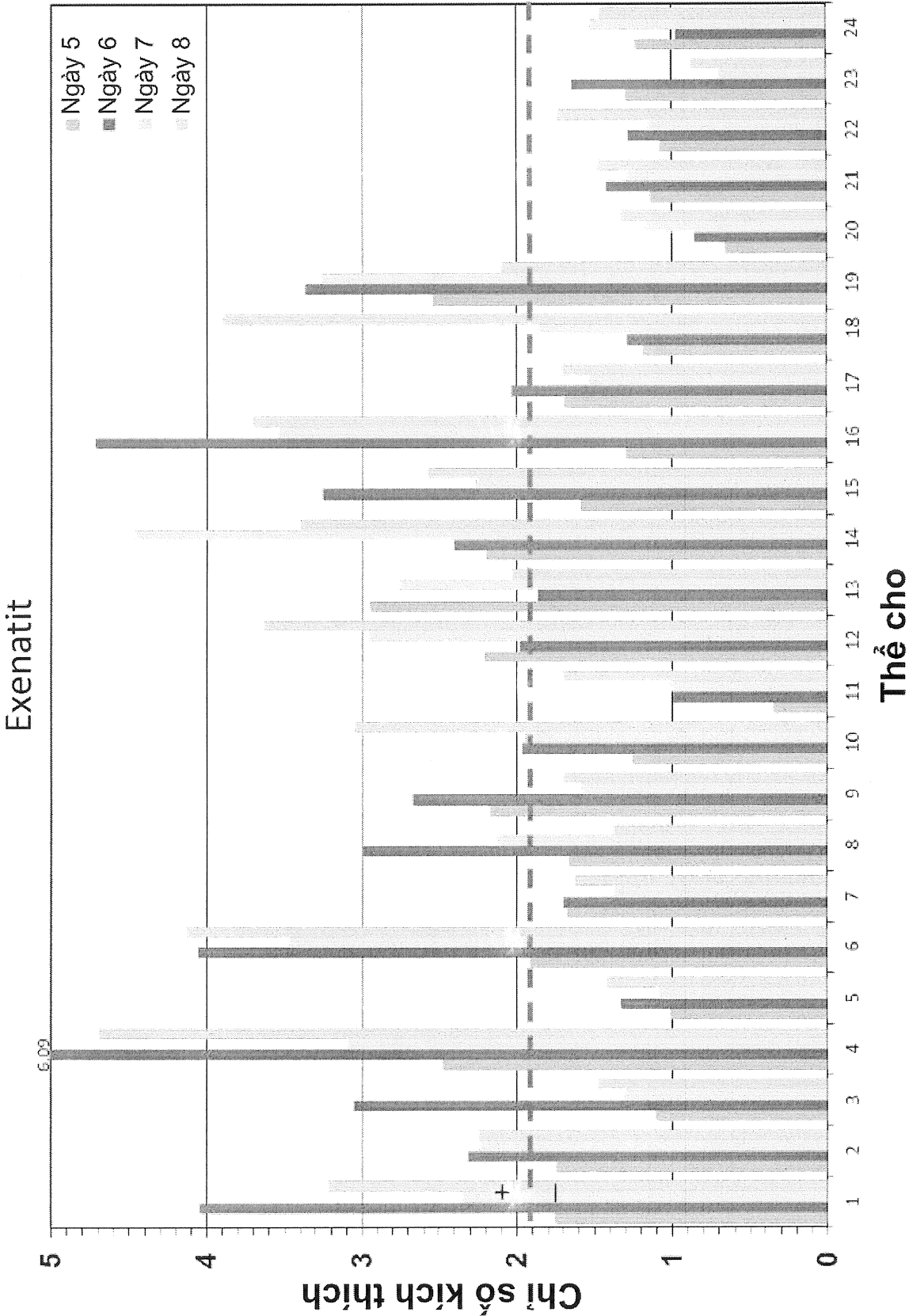
26/39



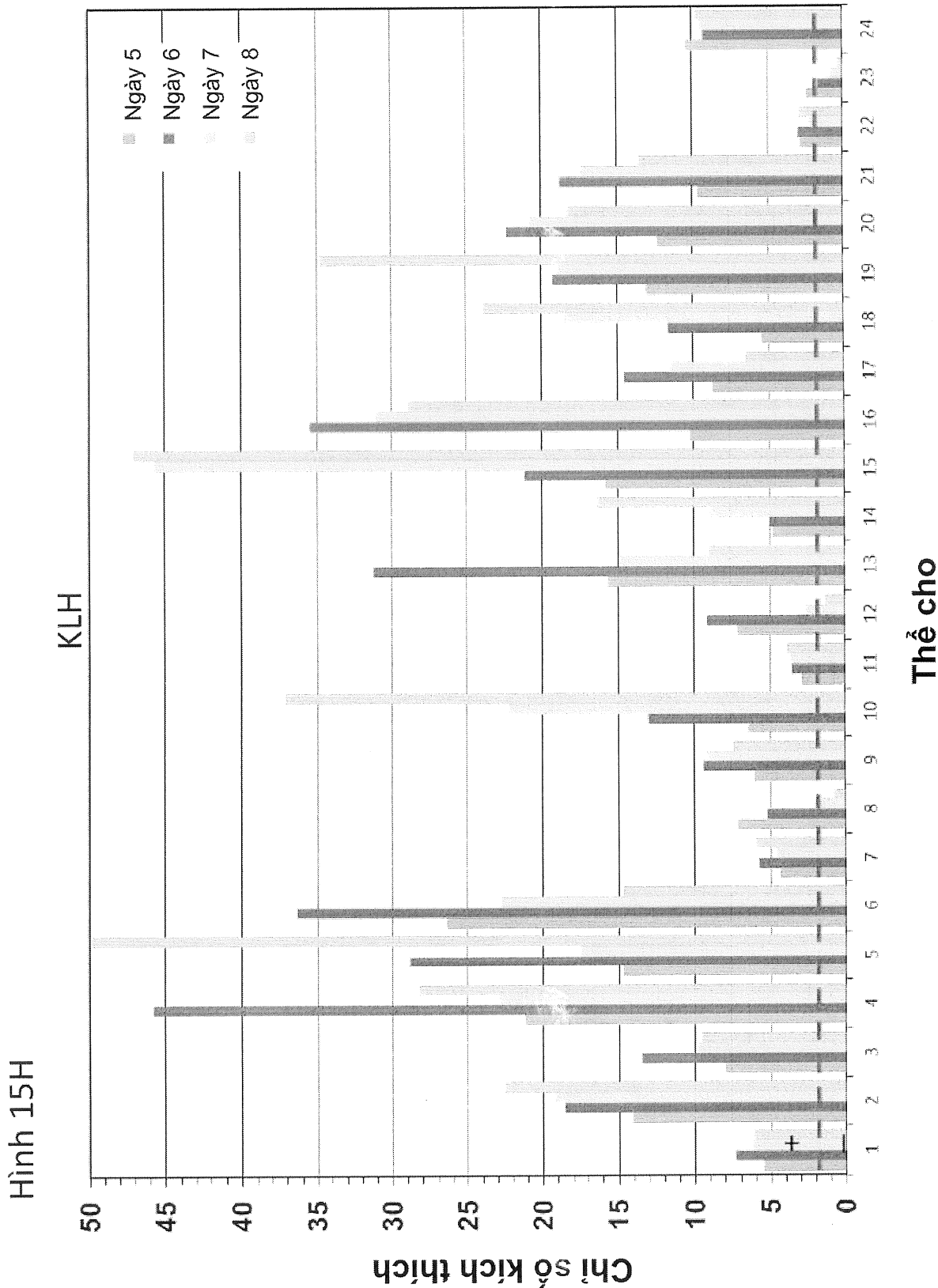
27/39



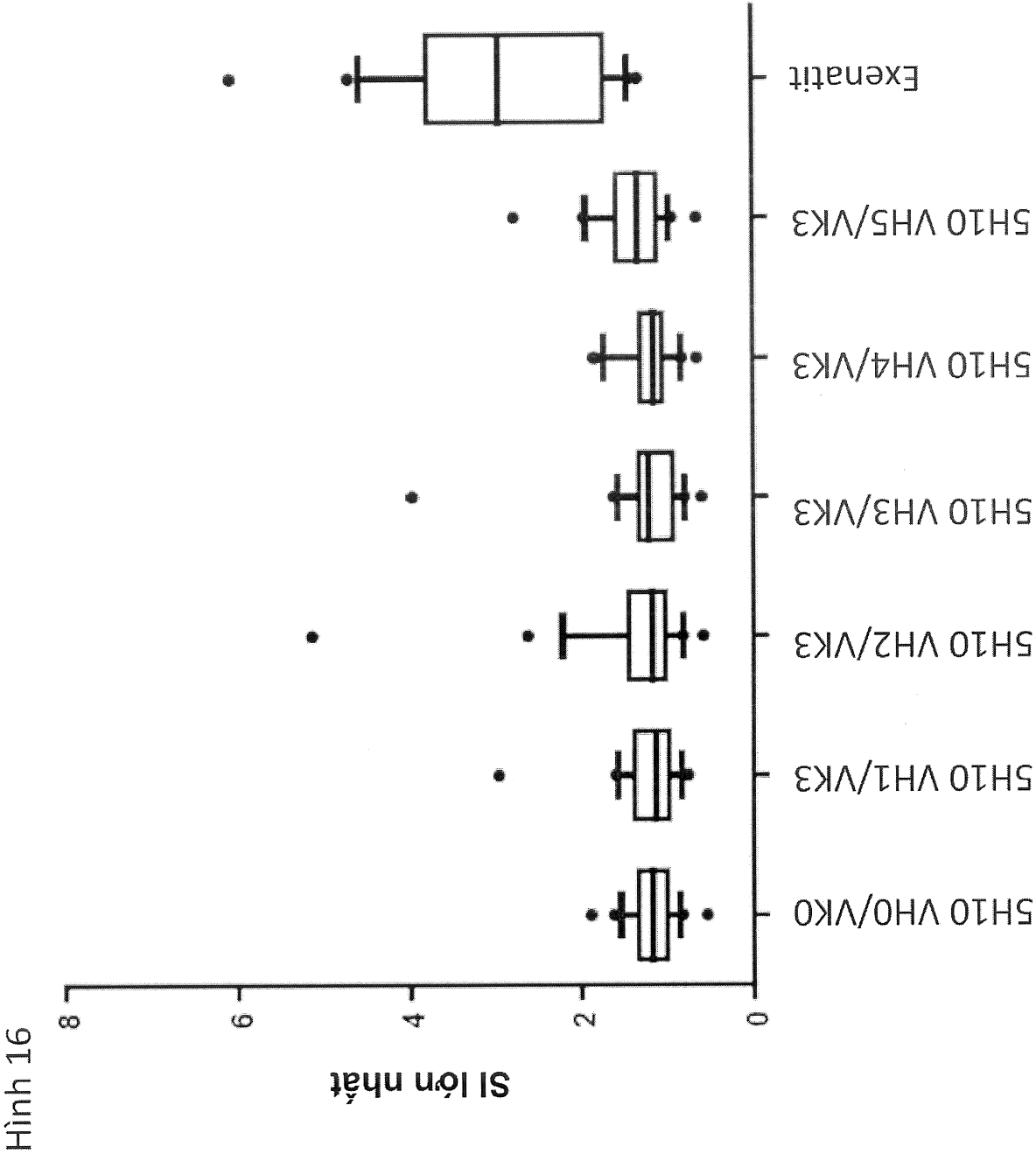
Hình 15G



29/39

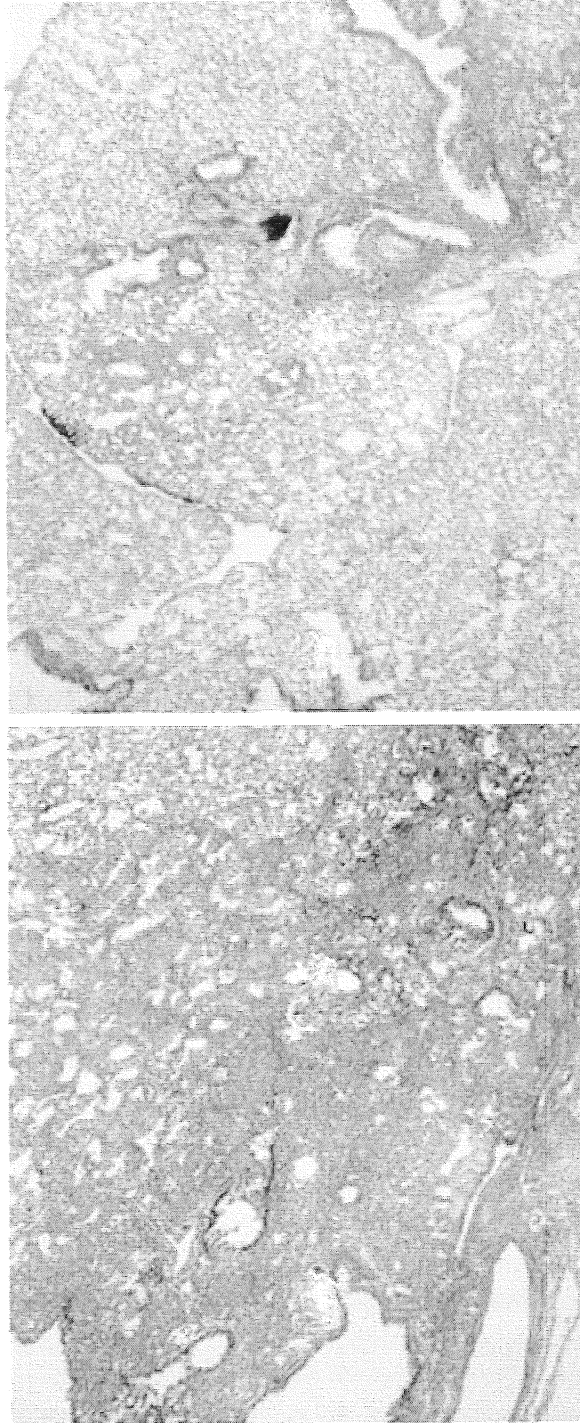


30/39



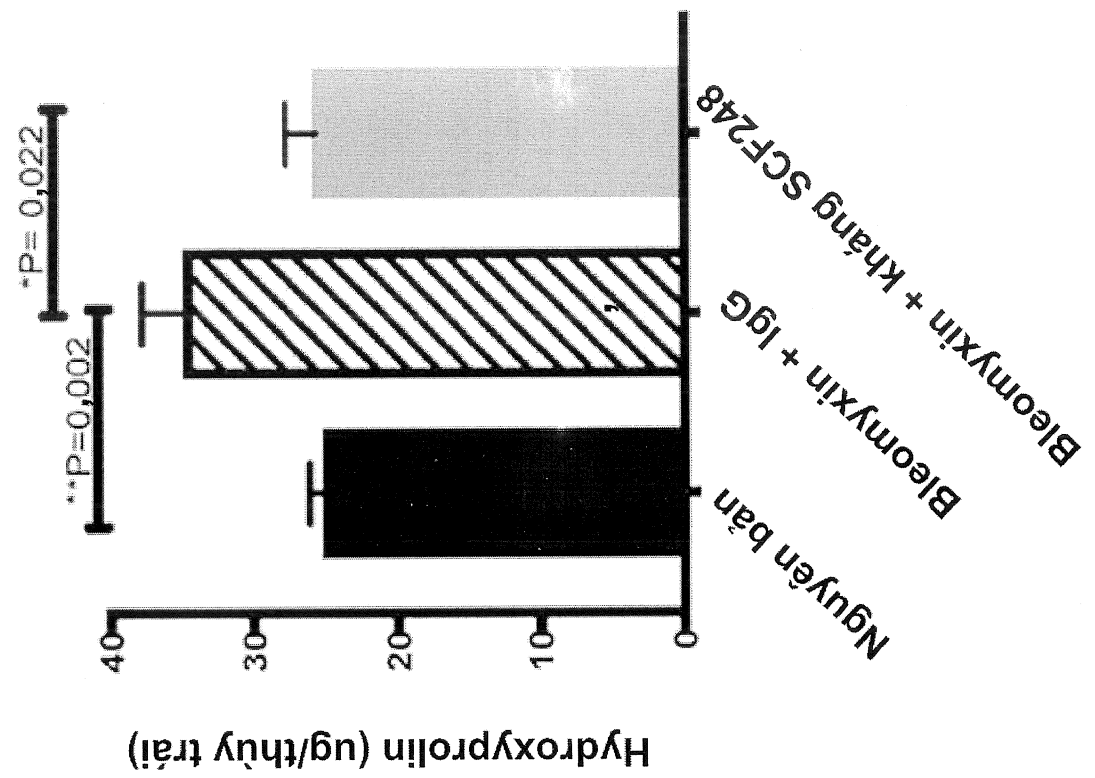
31/39

Hình 17

Đối Chứng Bleomycin**5H10**

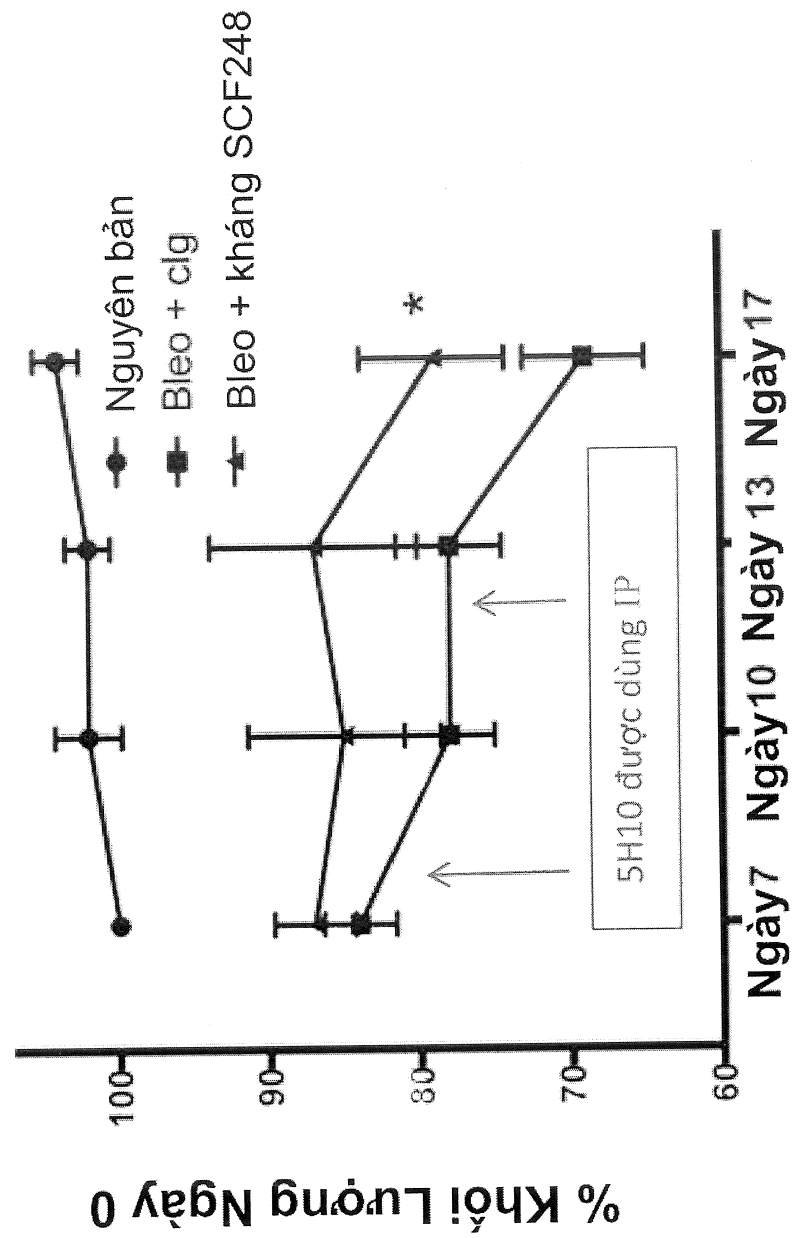
32/39

Hình 18



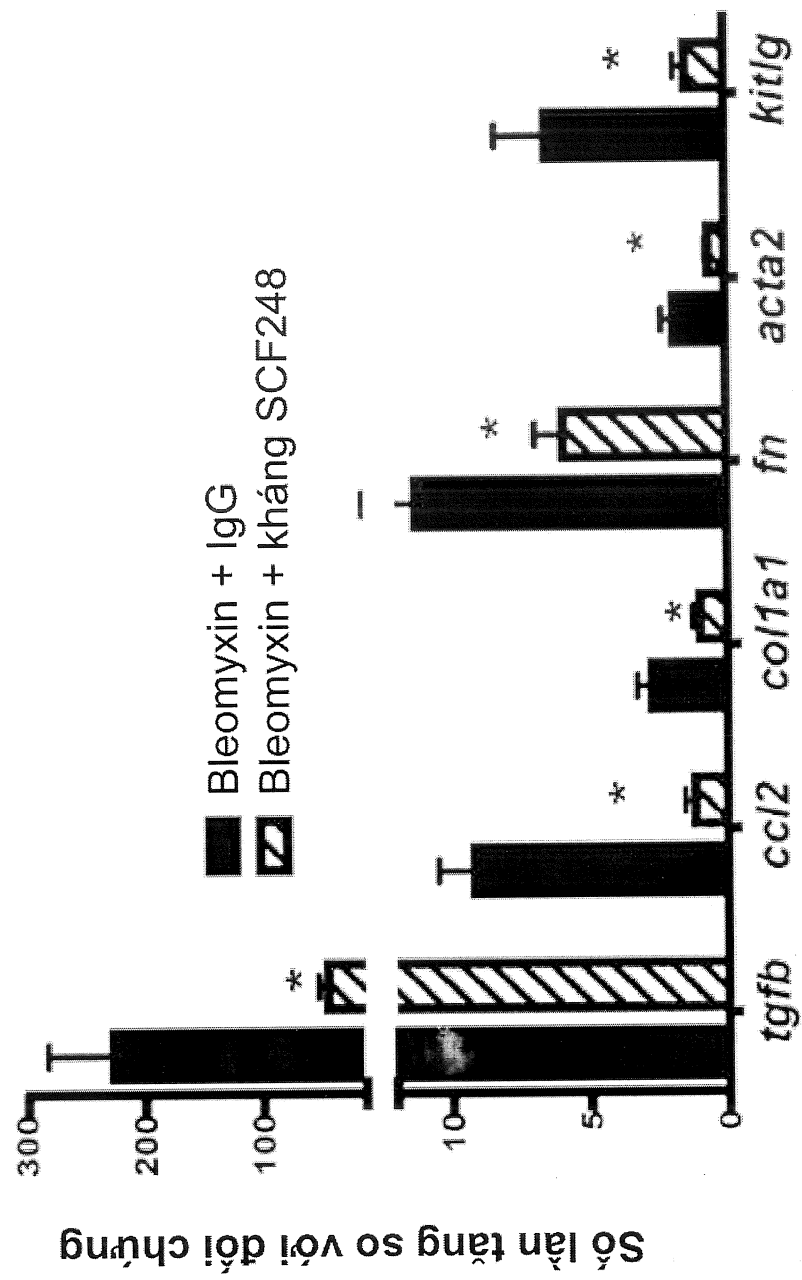
33/39

Hình 19

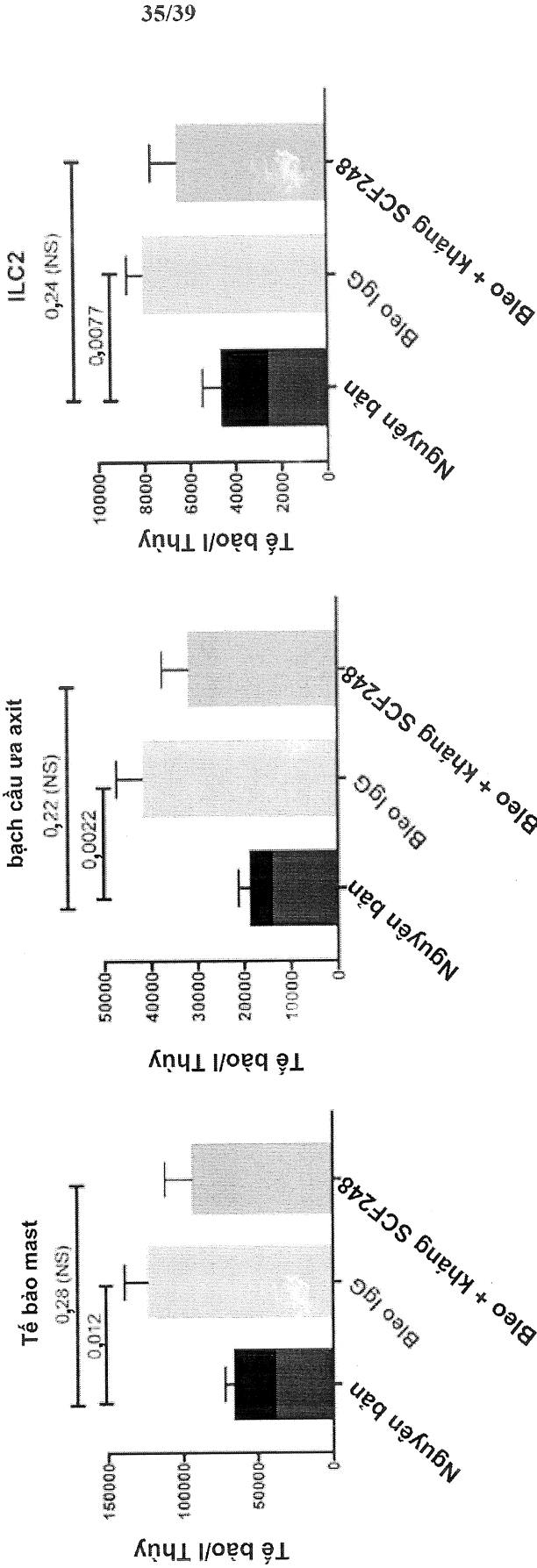


34/39

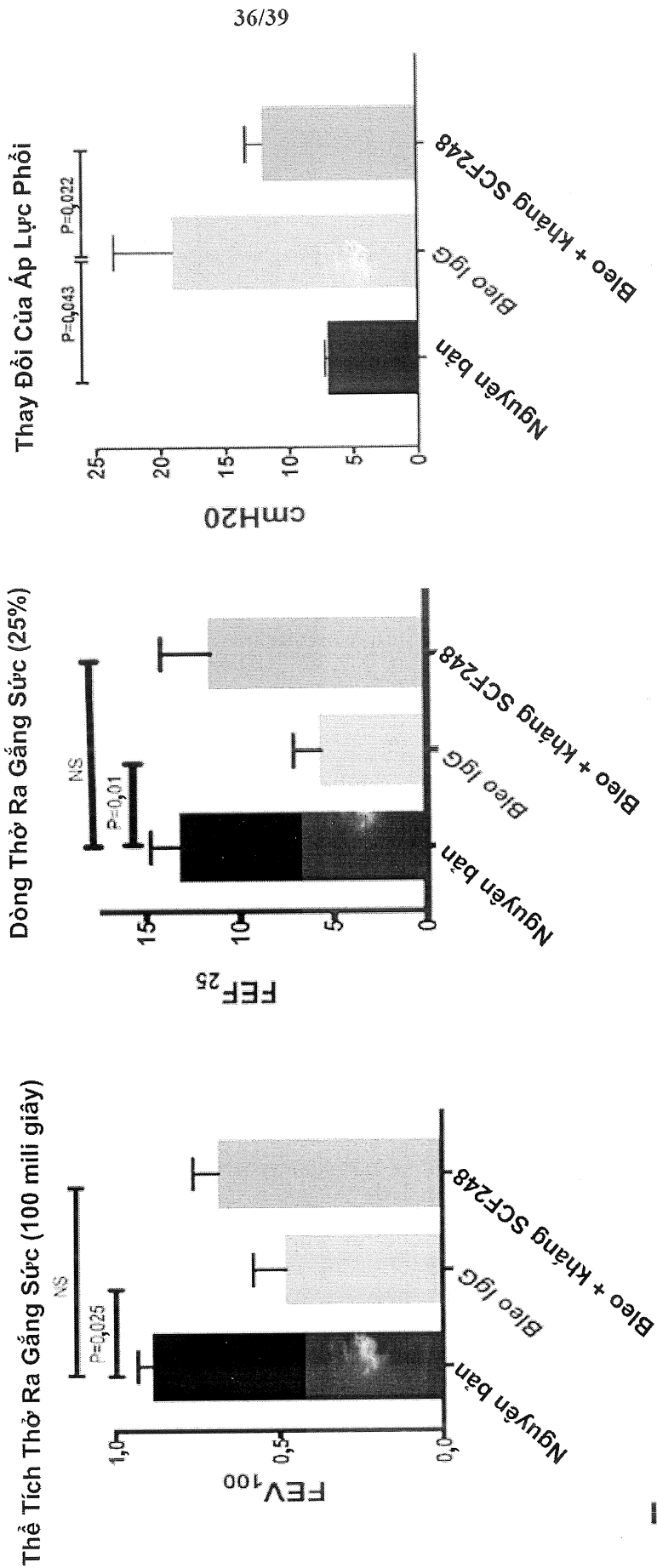
Hình 20



Hình 21

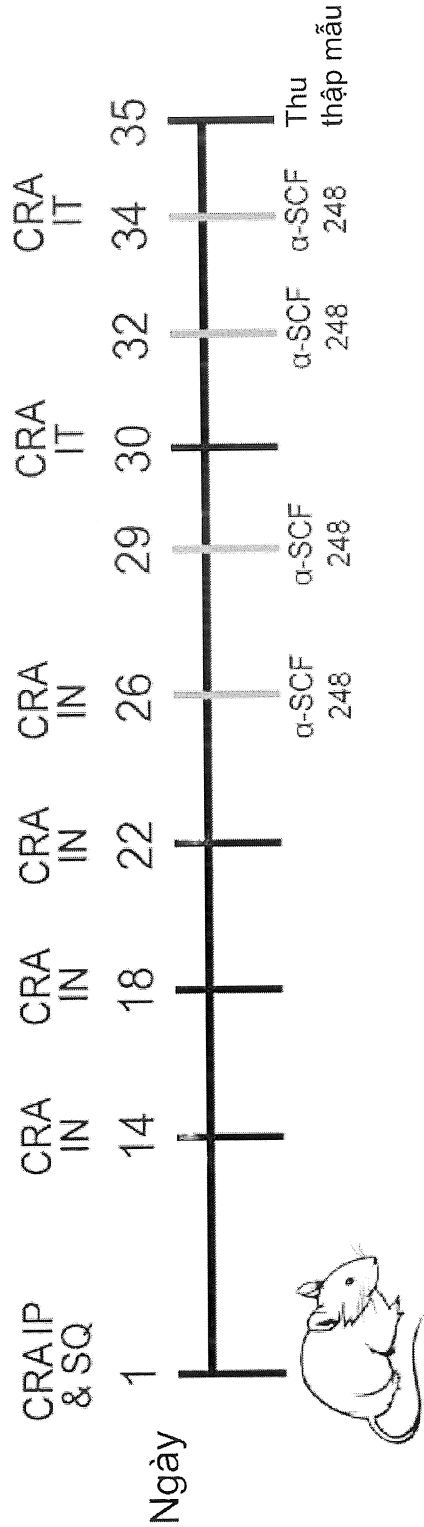


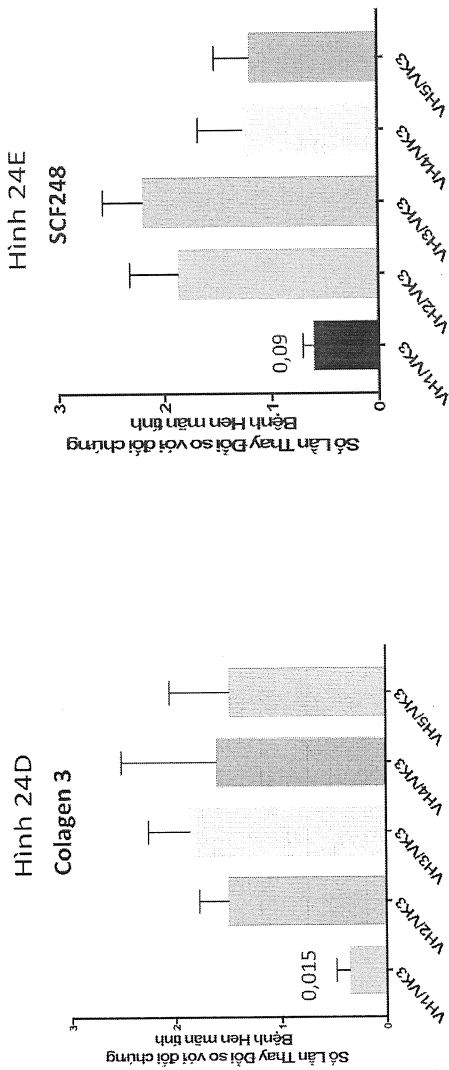
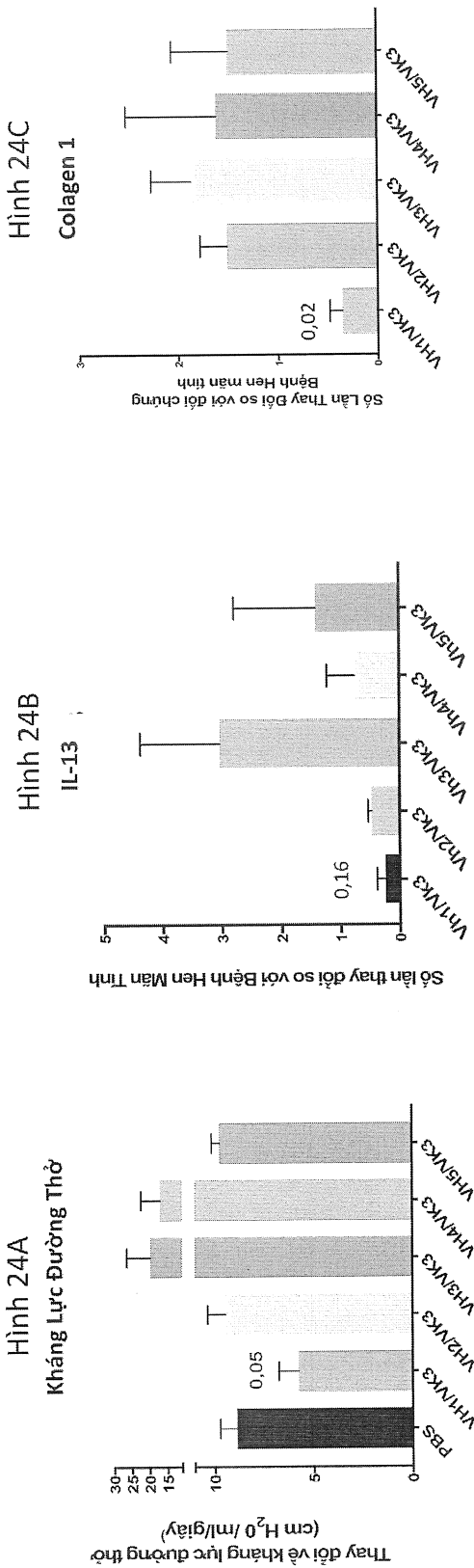
Hình 22



37/39

Hình 23





39/39

