



(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)



1-0052497

(51)^{2022.01} C07K 16/28; A61P 29/00

(13) B

(21) 1-2023-02328

(22) 14/09/2021

(86) PCT/EP2021/075235 14/09/2021

(87) WO 2022/053715 17/03/2022

(30) 20195961.6 14/09/2020 EP; 21151218.1 12/01/2021 EP; 21159485.8 26/02/2021 EP;
21179711.3 16/06/2021 EP

(45) 27/10/2025 451

(43) 27/11/2023 428A

(73) ICHNOS SCIENCES SA (CH)

Chemin de la Combeta 5, 2300 La Chaux-de-Fonds, Switzerland

(72) MACOIN, Julie (FR); CROSET, Amelie (FR); LOYAU, Jeremy (FR); MONNEY, Thierry (CH); MBOW, Lamine (US); DOUCEY, Marie-Agnes (FR); LABANCA, Valentina (IT).

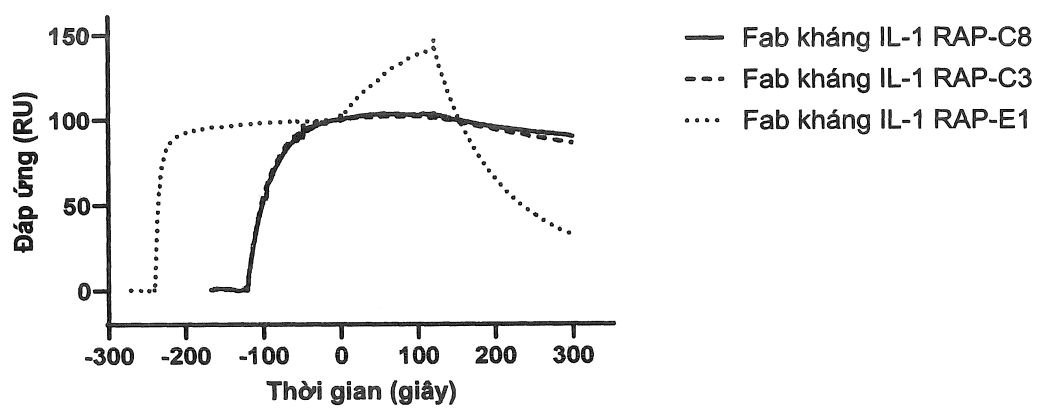
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG IL1RAP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2023-02328

(57) Sáng chế đề xuất các kháng thể và dẫn xuất liên kết đặc hiệu với IL1RAP ở người.

HÌNH 1



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất kháng thể và dẫn xuất liên kết đặc hiệu với IL1RAP ở người. Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng các kháng thể này để chẩn đoán và điều trị bệnh ở người.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Protein phụ của thụ thể interleukin-1 (IL1RAP hoặc IL1-Rap) là thành phần của phức hợp thụ thể interleukin 1, phức hợp này khơi mào các sự kiện truyền tín hiệu dẫn đến việc hoạt hóa các gen đáp ứng với interleukin 1. Sự ghép nối thay thế của gen này dẫn đến các dạng đồng phân liên kết màng và có thể hòa tan khác nhau ở đầu C của chúng. Tỷ lệ hòa tan với các dạng liên kết màng tăng lên trong thời gian cảm ứng hoặc căng thẳng pha cấp tính.

Họ các phối tử và thụ thể cytokin interleukin-1 (IL-1) có liên quan đến tình trạng viêm, tự miễn dịch, điều hòa miễn dịch, tăng sinh tế bào và bảo vệ vật chủ và góp phần vào bệnh lý viêm, tự miễn dịch, điều hòa miễn dịch, thoái hóa và tăng sinh tế bào (ví dụ, ung thư) các bệnh và rối loạn cũng như cytokin và các thụ thể của nó đóng vai trò là chất trung gian gây bệnh cho các bệnh và rối loạn đó. Xem, ví dụ, Chen và cộng sự, *Immunity*, 39:1003-1018 (2013).

Họ các cytokin IL-1 bao gồm interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, interleukin-33, interleukin-36 alpha, interleukin-36 beta và interleukin-36 gama. Mỗi một trong số các cytokin này đóng vai trò là phối tử có khả năng liên kết với thụ thể màng tế bào họ IL-1 đặc hiệu được biểu hiện trên bề mặt của một số tế bào. Sau khi liên kết cytokin thuộc họ IL-1 với thụ thể cùng nguồn gốc của nó, đồng thụ thể được thêm vào để tạo thành phức hợp bậc ba bao gồm cytokin, thụ thể màng cùng nguồn gốc, và đồng thụ thể của nó. Phức hợp thu được tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình truyền tín hiệu nội bào và hoạt hóa tập hợp các yếu tố phiên mã, bao gồm NF- κ B và AP-1 và các kinaza protein được hoạt hóa bằng mitogen, kích hoạt một loạt các đáp ứng viêm và miễn dịch, bao gồm cả việc sản xuất nhiều cytokin, chemokin, enzym và các phân tử kết dính.

IL1RAP đóng vai trò là đồng thụ thể phổ biến trên màng tế bào cho một số thụ thể của họ IL-1, bao gồm thụ thể interleukin-1, ST2 còn được gọi là thụ thể tương tự interleukin-1 và thụ thể tương tự 2 interleukin-1 (IL1RL2). IL1RAP là thành phần cần thiết của phức hợp truyền tín hiệu bậc ba được tạo thành bởi một trong các cytokin thuộc

họ IL-1 đã nêu ở trên, thụ thể cùng nguồn gốc cụ thể của cytokin và đồng thụ thể IL1RAP. Do đó, IL1RAP đóng vai trò là chức năng quan trọng trong các con đường truyền tín hiệu của họ IL-1, vì nó cần phải tạo điều kiện thuận lợi cho các con đường truyền tín hiệu xuôi dòng cụ thể được kích thích bởi các cytokin họ IL-1 là IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ .

WO2012098407A1 đề cập đến các tác nhân bao gồm gốc liên kết, chẳng hạn như kháng thể, có tính đặc hiệu đối với IL1RAP để sử dụng trong việc cảm ứng gây chết tế bào và/hoặc ức chế sự phát triển và/hoặc tăng sinh của các tế bào liên quan đến khối u rắn biểu hiện IL1RAP. WO2012098407A1 bộc lộ kháng thể đơn dòng IgG2a ở chuột kháng IL1RAP ở người, “mAb 81.2,” mà khi được sử dụng *trong cơ thể* dẫn đến sự chậm phát triển khối u ở mô hình chuột mắc u ác tính một cách đáng kể về mặt thống kê.

WO2015132602A1 đề cập đến các kháng thể có tính đặc hiệu đối với IL1RAP ở người và việc sử dụng chúng để điều trị các khối u rắn. WO2015132602A1 bộc lộ kháng thể đặc hiệu “CAN04” có nguồn gốc ở chuột liên kết đặc hiệu với miền 2 của IL1RAP ở người với KD là 200 pM, phản ứng chéo với IL1RAP ở khỉ cynomolgus, có khả năng cảm ứng ADCC trong một hoặc nhiều dòng tế bào ung thư (chẳng hạn như CML) và có một số tác dụng ức chế truyền tín hiệu kích thích IL-1 α , IL-1 β và IL-33.

WO2016020502A1 bộc lộ hai kháng thể đặc hiệu có nguồn gốc từ chuột là “CAN01” và “CAN03” liên kết đặc hiệu với miền 3 của IL1RAP ở người với KD lần lượt là 1,4 và 0,9 nM, phản ứng chéo với IL1RAP ở khỉ cynomolgus và có khả năng cảm ứng ADCC trong một hoặc nhiều dòng tế bào ung thư (như CML). CAN03 được xác định là có một số tác dụng ức chế truyền tín hiệu kích thích IL-1 α , IL-1 β và IL-33, trong khi CAN01 được phát hiện là thiếu tác dụng ức chế đáng kể đối với truyền tín hiệu IL-1 α , IL-1 β và IL-33.

WO2016207304A1 đề cập đến các kháng thể có nguồn gốc từ thỏ liên kết đặc hiệu với IL-1RAcP ở người và có một số tác dụng ức chế hoạt động của NF κ B được kích thích bởi IL-1 α , IL-1 β , IL-33 và/hoặc IL-36 β .

WO2017191325A9 đề cập đến các kháng thể IgG1 được nhân hóa liên kết đặc hiệu với IL-1R3 ở người và có một số tác dụng ức chế hoạt động của NF κ B được kích thích bởi IL-1 α , IL-1 β , IL-33 và/hoặc IL-36 β .

WO2020037154A1 đề cập đến các kháng thể được nhân hóa liên kết đặc hiệu với IL-1RAP ở người và có một số tác dụng ức chế trong các mô hình *trong phòng thí nghiệm* hạn chế.

Vẫn cần có các liệu pháp để điều trị, cải thiện hoặc ngăn ngừa các bệnh viêm nhiễm, tự miễn dịch, điều hòa miễn dịch, thoái hóa và tăng sinh tế bào hoặc các rối loạn liên quan đến việc truyền tín hiệu không phù hợp thông qua họ các phối tử và thụ thể cytokin IL-1.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế này đề xuất các kháng thể liên kết đặc hiệu IL1RAP ở người với ái lực cao. Các kháng thể có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc chặn hoàn toàn các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và/hoặc IL-36, bao gồm truyền tín hiệu được kích thích bằng cách liên kết với một hoặc nhiều chất chủ vận sau: IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và IL-36 γ . Sáng chế này cũng đề xuất các phương pháp điều trị bệnh và tình trạng đáp ứng với sự ức chế truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36.

Các bệnh tự miễn dịch thường có nhiều nguyên nhân và có thể phát sinh từ sự tương tác không phù hợp của một số con đường truyền tín hiệu. Do đó sáng chế đề xuất kháng thể kháng IL1RAP ức chế cả ba con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36.

Các kháng thể theo sáng chế được yêu cầu bảo hộ gây ra sự ngăn chặn cả ba con đường truyền tín hiệu của cytokin được điều hòa bởi IL1RAP, chẳng hạn như trên nguyên bào sợi và PBMC.

Bằng cách ngăn chặn cả ba con đường, điều này loại bỏ nhiều dạng kích thích gây bệnh thuộc họ IL1 của các cytokin tiền viêm bao gồm IL1R, IL33R và IL36R giúp phân biệt ISB 880 với các liệu pháp ngăn chặn cytokin đơn lẻ hoặc các kháng thể kháng IL1RAP trước đó không đối kháng với cả ba con đường truyền tín hiệu.

Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất kháng thể kháng IL1RAP bao gồm kháng thể kháng IL1RAP bao gồm vùng CDR chuỗi nặng thứ nhất (CDR-H1), vùng CDR chuỗi nặng thứ hai (CDR-H2), và vùng CDR chuỗi nặng thứ ba (CDR-H3) được chọn từ nhóm;

(a) CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin GFXXXXXXXXX (SỐ ID TRÌNH TỰ: 265), trong đó X ở vị trí 3 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin I, T, P; X ở vị trí 4 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin L, F, Y; X ở vị trí 5 có thể là axit amin

bất kỳ trong số các axit amin A, S, P, E, D; X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, G, T, H, Q, E, N, D. X ở vị trí 7 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin F, A, S, Y; X ở vị trí 8 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, G, S, P; X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin L, M, A; X ở vị trí 10 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin G, T, S, N;

(b) CDR-H2 bao gồm trình tự axit amin AISYDGEGTL (SỐ ID TRÌNH TỰ: 266);

(c) CDR-H3 bao gồm trình tự axit amin ARFXYYXAFDY (SỐ ID TRÌNH TỰ: 267), trong đó X ở vị trí 4 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin R, H; X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin Y, R; X ở vị trí 7 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin T, S;

hoặc

(d) CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin GXXXXXXAIX (SỐ ID TRÌNH TỰ: 262), trong đó X ở vị trí 2 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, G, S, P, E; X ở vị trí 3 có thể là bất kỳ trong số I, L, A, G, T, S, P, H, K, R; X ở vị trí 4 có thể là bất kỳ trong số L, F, A, S, W, H, N, R; X ở vị trí 5 có thể là bất kỳ trong số G, T, S, Y, P, H, E, N, R. X ở vị trí 6 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, A, S, P, Q, N, D; X ở vị trí 7 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin Y, H; X ở vị trí 10 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin H, Q;

(e) CDR-H2 bao gồm trình tự axit amin YIIPXXGXXXD (SỐ ID TRÌNH TỰ: 263), trong đó X ở vị trí 5 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin T, S; X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, L; X ở vị trí 8 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin G, Q; X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin F, Y;

(f) CDR-H3 bao gồm trình tự axit amin ARGQTLYXXGRQFDI (SỐ ID TRÌNH TỰ: 264), X ở vị trí 8 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, E, D. X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, T, S; và

trong đó kháng thể kháng IL1RAP đã nêu bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 268.

Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất kháng thể kháng IL1RAP bao gồm

(i) vùng CDR chuỗi nặng thứ nhất (CDR-H1), vùng CDR chuỗi nặng thứ hai (CDR-L2), và vùng CDR chuỗi nặng thứ ba (CDR-L3), trong đó: (a) CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ các SỐ ID TRÌNH TỰ: 81-140; (b) CDR-H2 bao gồm trình tự axit

amin được chọn từ các SỐ ID TRÌNH TỰ: 141-200; (c) CDR- H3 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ các SỐ ID TRÌNH TỰ: 201-260.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này bao gồm trình tự axit amin miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có ít nhất là 90% độ tương đồng với trình tự được chọn từ các SỐ ID TRÌNH TỰ: 8-51, 60-70.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng IL1RAP bao gồm các CDR chuỗi nặng có các SỐ ID TRÌNH TỰ: 128, 188 và 248.

Theo các phương án khác nhau của kháng thể kháng IL1RAP được đề xuất bởi sáng chế này, kháng thể này được đặc trưng bởi một hoặc nhiều đặc tính sau:

- (a) kháng thể liên kết với IL1RAP ở người có ái lực liên kết từ 1×10^{-8} M hoặc thấp hơn, 1×10^{-9} M hoặc thấp hơn, 1×10^{-10} M hoặc thấp hơn hoặc 1×10^{-11} M hoặc thấp hơn; tùy ý, trong đó ái lực liên kết được đo bằng hằng số phân ly cân bằng (KD) với polypeptit IL1RAP có SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ: 6;
- (b) kháng thể làm giảm tín hiệu kích thích IL-1, tín hiệu kích thích IL-33 và/hoặc tín hiệu kích thích IL-36 ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99% hoặc 100%; tùy ý, trong đó mức giảm tín hiệu được đo bằng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào; tùy ý, trong đó các tín hiệu kích thích IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36 được kích thích bởi chất chủ vận được chọn từ IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và IL-36 γ .
- (c) kháng thể làm giảm tín hiệu nội bào được khơi mào bởi một hoặc nhiều chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ liên kết với thụ thể cùng nguồn gốc của nó ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100%; tùy ý, trong đó mức giảm tín hiệu nội bào được đo bằng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào;
- (d) kháng thể ức chế IL-1 α , IL-1 β , và/hoặc IL-36 β kích thích giải phóng IL8 từ dòng tế bào sừng HaCaT sơ cấp;
- (e) kháng thể ức chế giải phóng IL8 được kích thích bởi IL-1 β từ các tế bào đơn nhân sơ cấp ở người;
- (f) kháng thể ức chế giải phóng INF- γ do IL-33 kích thích từ các tế bào đơn nhân sơ cấp ở người;
- (g) kháng thể ức chế sự hoạt hóa bạch cầu trung tính khi ủ với môi trường sau kích thích dưới điều kiện HaCaT với IL-1 β và IL-36 γ ;
- (h) kháng thể liên kết với các gốc axit amin trong miền 2 của IL1RAP ở người;

(i) kháng thể phản ứng chéo với polypeptit IL1RAP ở khỉ cynomolgus có SỐ ID TRÌNH TỰ: 7; và/hoặc

(j) kháng thể phản ứng chéo với polypeptit IL1RAP ở chuột có SỐ ID TRÌNH TỰ: 261.

Sáng chế này cũng đề xuất các phương án của kháng thể kháng IL1RAP, trong đó: (i) kháng thể là kháng thể đơn dòng; (ii) kháng thể là kháng thể ở người, được nhân hóa hoặc khảm; (iii) kháng thể này là kháng thể có chiều dài đầy đủ của lớp IgG, tùy ý, trong đó kháng thể lớp IgG này có isotyp được chọn từ IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4; (iv) kháng thể là biến thể của vùng Fc, tùy ý là biến thể của vùng Fc làm thay đổi chức năng phản ứng với kích thích (ví dụ, biến thể dẫn đến tăng hoặc giảm chức năng phản ứng với kích thích), biến thể của vùng Fc thể hiện hoạt tính CDC, hoạt tính ADCC, và/hoặc hoạt tính ADCCP giảm, biến thể vùng Fc thể hiện hoạt tính gây độc tế bào giảm đối với bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính và/hoặc tế bào Jurkat ở người, hoặc biến thể vùng Fc làm thay đổi thời gian bán hủy của kháng thể; (v) kháng thể là mảnh kháng thể, được chọn tùy ý từ nhóm bao gồm F(ab')₂, Fab', Fab, Fv, kháng thể đơn miền (VHH), và scFv; (vi) kháng thể là thể liên hợp miễn dịch, tùy ý, trong đó thể liên hợp miễn dịch bao gồm tác nhân trị liệu để điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP; (vii) kháng thể này là kháng thể đa đặc hiệu, tùy chọn là kháng thể đặc hiệu kép; và (viii) kháng thể này là kháng thể tổng hợp, trong đó các CDR được ghép vào khung hoặc khung khác với khung hoặc khung globulin miễn dịch; tùy ý, khung được chọn từ khung protein thay thế và khung polyme nhân tạo.

Theo các phương án khác, sáng chế này đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa các kháng thể kháng IL1RAP được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, sáng chế này cũng đề xuất tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Sáng chế này cũng đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể kháng IL1RAP, trong đó phương pháp này bao gồm nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic (hoặc vectơ) mã hóa kháng thể kháng IL1RAP để tạo ra kháng thể.

Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất chế phẩm dược chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này và chất mang dược dụng. Theo một số phương án, chế phẩm dược còn bao gồm tác nhân trị liệu để điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL-1, IL-33, IL-36, và/hoặc IL1RAP; tùy ý, trong đó tác nhân trị liệu là tác nhân hóa trị liệu.

Sáng chế này cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh được điều hòa bởi IL1RAP ở đối tượng, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này, hoặc lượng có hiệu quả trị liệu của công thức được chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Sáng chế này cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh được điều hòa bởi sự truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36 ở đối tượng, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này, hoặc lượng có hiệu quả trị liệu của chế phẩm được chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Sáng chế này cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh được điều hòa bởi sự truyền tín hiệu được kích thích IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và/hoặc IL-36 γ ở đối tượng, bao gồm sử dụng cho đối tượng lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này, hoặc lượng có hiệu quả trị liệu của chế phẩm được chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo các phương án khác nhau của các phương pháp điều trị được bộc lộ trong bản mô tả này, các bệnh và tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP, hoặc các bệnh được điều hòa bởi sự truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36, bao gồm bệnh viêm nhiễm, bệnh tự miễn dịch, bệnh tự viêm nhiễm, bệnh đường hô hấp, rối loạn chuyển hóa, nhiễm trùng, và ung thư. Theo một số phương án, các bệnh và tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP có thể được chọn từ: mụn trứng cá, viêm tụy, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), tăng phản ứng đường thở, viêm đường thở, viêm kết mạc dị ứng, xơ cứng teo cơ một bên (ALS), viêm mũi dị ứng, dị ứng, bệnh Alzheimer/chứng mất trí nhớ, bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS), bệnh da liễu bạch cầu trung tính, Viêm tuyến mồ hôi có mủ, Bệnh vẩy cá, sốc phản vệ, viêm khớp, hen suyễn/dị ứng/polyp mũi, xơ vữa động mạch, viêm da dị ứng, viêm mạch tự miễn/tự viêm (bao gồm nhưng không giới hạn ở viêm động mạch tế bào khổng lồ, viêm động mạch Takayasu, bệnh Kawasaki), bệnh Behcet (bao gồm cả Bechet thần kinh), ung thư xương, ung thư não, ung thư vú, suy mòn/chán ăn, viêm sụn, thiếu máu não, hội chứng mệt mỏi mạn tính, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh liên quan đến Clostridium, ung thư đại tràng, suy tim sung huyết, viêm kết mạc, viêm mạch vành, tái hẹp mạch vành, tiểu đường, phù hoàng điểm do tiểu đường, bệnh vồng mạc do tiểu đường, bệnh khô mắt, lạc nội mạc tử cung, rối loạn tiêu

hóa liên quan đến bạch cầu ái toan, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, hội chứng tự viêm do lạnh có tính gia đình, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, đau cơ xơ hóa, rối loạn xơ hóa, dị ứng thực phẩm, vảy nến mụn mủ toàn thân, bệnh tăng nhãn áp, viêm cầu thận, viêm khớp do gút, bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, nhiễm giun sán, sốc xuất huyết, viêm tuyến mồ hôi mủ, chứng tăng đau, hội chứng tăng IgD, tăng axit uric máu, xơ phổi vô căn (IPF), đau do ung thư, nhiễm trùng, bệnh viêm ruột (IBD, bao gồm nhưng không giới hạn ở viêm loét đại tràng và bệnh Crohn), tình trạng viêm do căng thẳng, bệnh viêm mắt liên quan đến ghép giác mạc, đau do viêm, di chứng liên quan đến cúm, ung thư đường ruột, thiếu máu cục bộ, viêm khớp vị thành niên, bệnh Kawasaki, ung thư thận, bệnh mù bẩm sinh Leber, ung thư gan, bệnh gan, ung thư phổi, hội chứng kích hoạt đại thực bào (MAS), thoái hóa điểm vàng, hội chứng Muckle-Wells, đa u tủy, đa xơ cứng, đau cơ xương, bệnh bạch cầu tủy và các bệnh bạch cầu khác, hội chứng loạn sản tủy (MDS), rối loạn chức năng cơ tim, bệnh cơ, polyp mũi, bệnh viêm đa hệ thống khởi phát ở trẻ sơ sinh, nhiễm độc thần kinh, bệnh da bạch cầu trung tính (bao gồm mụn mủ lòng bàn tay, mụn da hoại thư, bệnh vảy nến, hội chứng Sweet, viêm kết mạc không nhiễm trùng, viêm màng bồ đào không nhiễm trùng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, phẫu thuật chỉnh hình, viêm xương khớp, loãng xương, đau, ung thư tuyến tụy, bệnh Parkinson, bệnh nha chu, bệnh mạch máu ngoại biên, đau đa cơ do thấp khớp, bệnh mạch máu màng đệm đa hình (PCV), tiền sản giật hoặc sản giật, sinh non, ung thư tuyến tiền liệt, nhiễm trùng đơn bào, bệnh vảy nến, viêm khớp vảy nến, viêm mù da hoại thư, xơ cứng hệ thống, tổn thương tái tưới máu, virus hợp bào hô hấp (RSV), tái hẹp đặc biệt sau nong mạch vành và đặt stent, bong võng mạc, tái viêm da sắc tố, bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP), viêm khớp dạng thấp, sốc nhiễm trùng, thiếu máu hồng cầu hình liềm, tác dụng phụ của xạ trị, hội chứng SAPHO (viêm bao hoạt dịch, mụn trứng cá, mụn mủ, phì đại xương và viêm xương), viêm xoang, ung thư da, rối loạn giấc ngủ, viêm do bong gân, bệnh Still, ung thư dạ dày, lupus ban đỏ hệ thống (bao gồm viêm thận lupus), bệnh khớp thái dương hàm, hội chứng định kỳ liên quan đến thụ thể TNF và các hội chứng sốt di truyền khác, thai ghép, chấn thương, chấn thương mắt, tiểu đường loại 2, và bệnh bạch biến.

Theo một số phương án, sáng chế này cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể thuộc kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong

bản mô tả này, hoặc lượng có hiệu quả trị liệu của công thức được của kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo các phương án, bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, bệnh ung thư tuyến tụy.

Theo một số phương án, sáng chế này cũng đề xuất phương pháp phát hiện mức IL1RAP trong mẫu sinh học, bao gồm bước cho mẫu này tiếp xúc với kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này. Các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được sử dụng trong phương pháp xét nghiệm bất kỳ đã biết, chẳng hạn như xét nghiệm liên kết cạnh tranh, xét nghiệm sandwich trực tiếp và gián tiếp, xét nghiệm kích thích miễn dịch và xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme (EEISA) (Xem, Sola, 1987, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, trang 147-158, CRC Press, Inc.) để phát hiện và định lượng IL1RAP. Các kháng thể liên kết polypeptit IL1RAP ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 hoặc 6) với ái lực cao thích hợp cho nhiều loại xét nghiệm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1. Ngăn chặn sự hình thành phức hợp đồng thụ thể/thụ thể/cytokin IL-1RAP/IL-1R1/IL-1 β ở người khi liên kết Fab kháng IL-1RAP-C8 và Fab kháng IL-1RAP-C3 với Fab kháng IL-1RAP-C3 ở người được đánh giá bằng Cộng hưởng plasmon bề mặt. Protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở người được cố định trên CHIP cảm biến Series S CM5 kết hợp với Fc kháng IgG ở người. Mảnh Fab được tiêm ở mức 300 nM trong đệm HBS-EP+ để đạt đến độ bão hòa của IL-1RAP ở người được cố định, sau đó tiêm lần thứ hai dung dịch IL-1R1 trộn sẵn ở mức 50 nM, IL-1 β ở mức 100nM và mảnh Fab ở 300 nM trong đệm HBS-EP+. Fab kháng IL-1RAP-E1 đã được sử dụng làm đối chứng không phải chất ngăn chặn. Biểu đồ thể hiện dữ liệu được biểu thị bằng số đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU; trục Y) so với thời gian (trục X). Các đường cong được đánh dấu bằng tên dòng Fab bão hòa.

Hình 2. Ánh xạ miễn của dòng kháng IL-1RAP-C8 và dòng kháng IL-1RAP-C3 sang các thể khảm IL-1RAP ở người-gà bằng cách sử dụng Cộng hưởng plasmon bề mặt. IgG1 LALA kháng IL-1RAP-C8 (A) hoặc IgG1 LALA kháng IL-1RAP- C3 (B) đã được cố định trên CHIP cảm biến CM5 Series S cùng với Fc kháng IgG ở người. Các thể khảm IL-1RAP ở người-gà được tiêm qua IgG1 LALA kháng IL-1RAP được cố định ở 50 nM trong đệm HBS-EP+, sau đó là sự phân ly trong đệm HBS-EP+, “hs” là

viết tắt của miền ở người và “gg” là viết tắt của miền ở gà. Sau đó, các thể khám ở người-gà được mô tả theo miền ở người hoặc gà tương ứng của chúng theo thứ tự liên tiếp, ví dụ hs-gg-gg IL-1RAP là viết tắt của IL-1RAP với miền 1 ở người, miền 2 ở gà và miền 3 ở gà. Các biểu đồ thể hiện dữ liệu được biểu thị bằng số đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU; trục Y) so với thời gian (trục X).

Hình 3. Chồng chất quyết định kháng nguyên của dòng kháng IL-1RAP-C8 và dòng kháng IL-1RAP-C3 thành IL-1RAP ở người bằng phương pháp Giao thoa kế lớp sinh học Octet. Protein IL-1RAP-avi-his ở người đánh dấu biotin được nạp vào Cảm biến sinh học streptavidin SA. Fab kháng IL-1RAP-C8 đã được tiêm trên IL-1RAP ở người được cố định ở 200 nM trong đệm động học để đạt đến độ bão hòa của bề mặt. Sau đó, dung dịch Fab kháng IL-1RAP-C3 và Fab kháng IL-1RAP-C8 trộn sẵn ở nồng độ cuối cùng 200 nM được tiêm lên bề mặt bão hòa. Quy trình thí nghiệm tương tự đã được thực hiện bằng cách sử dụng Fab kháng IL-1RAP-EI thay vì Fab kháng IL-1RAP-C3, dưới dạng đối chứng không cạnh tranh. Biểu đồ thể hiện liên kết với đầu cảm biến dưới dạng thay đổi bước sóng (tính bằng nm; trục Y) so với thời gian (trục X). Các đường cong được đánh dấu bằng tên dòng Fab cạnh tranh.

Hình 4. Các phép đo Cộng hưởng plasmon bề mặt của IgG1 LALA kháng IL-1RAP-C8-RecC-ES đối với IL-1RAP ở người và khỉ cynomolgus. IgG1 LALA kháng IL-1RAP-C8-RecC-ES được cố định trên CHIP cảm biến CM5 Series S cùng với Fc kháng IgG ở người. IL-1RAP-avi-his ở người hoặc IL-1RAP-avi-his ở khỉ cynomolgus được tiêm qua IgG1 LALA cố định trong chuỗi nồng độ trong đệm HBS-EP+. Một bản sao đại diện cho (A) IL-1RAP ở người và (B) IL-1RAP ở khỉ cynomolgus được trình bày. Các biểu đồ đang thể hiện dữ liệu được biểu thị bằng số đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU; trục Y) so với thời gian (s, trục X). Các đường nét đứt biểu thị dữ liệu đo được trong khi các đường nét liền biểu thị sự phù hợp mô phỏng. KD: hằng số phân ly cân bằng; Ka: hằng số kết hợp; Kd : hằng số phân ly.

Hình 5. Các phép đo Cộng hưởng plasmon bề mặt IgG2a LALA kháng IL-1RAP-C3-A3 ở chuột tới IL-1RAP ở chuột. IgG2a LALA kháng IL-1RAP-C3-A3 ở chuột đã được cố định trên CHIP cảm biến Series S CM5 kết hợp với Fc kháng IgG ở chuột. IL-1RAP-his ở chuột được tiêm qua IgG2a LALA cố định trong chuỗi nồng độ trong đệm HBS-EP+. Một bản sao đại diện được trình bày. Các biểu đồ đang thể hiện dữ liệu được biểu thị bằng số đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU; trục Y) so với thời gian (s, trục X).

Các đường nét đứt biểu thị dữ liệu đo được trong khi các đường nét liền biểu thị sự phù hợp mô phỏng. KD: hằng số phân ly cân bằng; Ka: hằng số kết hợp; Kd : hằng số phân ly.

Hình 6. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người liên kết đặc hiệu với IL-1RAP ở người và Cyno. Liều lượng đáp ứng của ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ với các dòng tế bào và loại tế bào khác nhau. Kháng thể giới hạn được phát hiện với kháng thể thứ cấp IgG PE-Cyanin7 đơn dòng ở người. Các đồ thị thể hiện các đường cong liên kết hồi quy sigmoid phi tuyến tính (Cường độ huỳnh quang trung bình nhân tương đối) cho từng dòng tế bào. Mỗi điểm dữ liệu là một phép đo cho dòng tế bào nhất định. Nhiều thí nghiệm độc lập đã được thực hiện trên một số thể cho (HaCaT và HaCaT IL-1RAP KO: 4 và 3 thí nghiệm độc lập; Nguyên bào sợi ở da ở người: 2 thí nghiệm độc lập - tổng cộng 5 thể cho; Bạch cầu trung tính ở người: 2 thí nghiệm - tổng cộng 6 thể cho; Nguyên bào sợi ở da ở Cyno: 2 thí nghiệm độc lập - tổng cộng 4 thể cho).

Hình 7. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-1 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích HaCaT. Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ với dòng tế bào kiểu đại HaCaT kích thích bằng IL-1 β hoặc IL-3. Các đồ thị thể hiện các đường cong ức chế hồi quy sigmoid phi tuyến tính cho từng kích thích (IL-1 β hoặc IL-36 γ). Mỗi điểm dữ liệu là phép đo cho thí nghiệm độc lập. Hai thí nghiệm độc lập đã được thực hiện.

Hình 8. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 trong xét nghiệm kích thích tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) ở người. Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ với hPBMC được kích thích bằng IL-1 β hoặc IL-12+IL-33. Các đồ thị thể hiện các đường cong lớp phủ ức chế hồi quy sigmoid phi tuyến tính cho từng kích thích (IL-1 β hoặc IL-12+IL-33). Mỗi đường cong đại diện cho lớp phủ của 3 thể cho. Hai thí nghiệm độc lập đã được thực hiện.

Hình 9. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cytokin trong xét nghiệm tái kích thích máu toàn phần khi kích thích cytokin kết hợp. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ trong máu toàn phần ở người với sự kết hợp của IL-1 α , IL-1 β , IL-12, IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ . Các

đồ thị thể hiện tác động của sự kết hợp đối với việc giải phóng các cytokin và chemokin cũng như tác động của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người đối với mỗi lần đọc đối với việc giải phóng các dấu hiệu hòa tan (A, B, C) và trên dữ liệu ức chế được chuẩn hóa (D). Mỗi điểm là một phép đo cho một thể cho. Tám thí nghiệm độc lập đã được thực hiện. NS là viết tắt của Không đáng kể; * với $0,01 < p < 0,05$; * với $0,001 < p < 0,01$; * với $p < 0,001$

Hình 10. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế sự hoạt hóa bạch cầu trung tính khi ủ với môi trường sau kích thích dưới điều kiện HaCaT với IL-1 β và IL-36 γ . Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ với dòng tế bào kiểu đại HaCaT được kích thích bằng IL-1 β và IL-3. Môi trường được tạo điều kiện 24 giờ sau khi kích thích được thu lại và ủ với bạch cầu trung tính mới được phân lập. Các đồ thị thể hiện ảnh hưởng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người đối với tỷ lệ phần trăm bạch cầu trung tính được hoạt hóa. Mỗi điểm là một phép đo cho một thể cho. Ba thí nghiệm độc lập đã được thực hiện với tổng số 9 thể cho. NS là viết tắt của Không đáng kể; * với $0,01 < p < 0,05$; * với $0,001 < p < 0,01$; * với $p < 0,001$

Hình 11. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột liên kết đặc hiệu với IL-1RAP ở chuột. Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) ở người được ủ với các dòng tế bào và loại tế bào khác nhau. Kháng thể giới hạn được phát hiện với kháng thể thứ cấp IgG PE-Cyanin7 đơn dòng ở người. Các đồ thị thể hiện các đường cong liên kết hồi quy sigmoid phi tuyến tính (Cường độ huỳnh quang trung bình hình học tương đối) cho từng dòng tế bào. Mỗi điểm dữ liệu là một phép đo cho dòng tế bào nhất định. Nhiều thí nghiệm độc lập đã được thực hiện trên một số thể cho (HaCaT và HaCaT IL-1RAP KO: 4 và 3 thí nghiệm độc lập; Nguyên bào sợi ở da ở người: 2 thí nghiệm độc lập - tổng cộng 5 thể cho; Bạch cầu trung tính ở người: 2 thí nghiệm - tổng cộng 6 thể cho; Nguyên bào sợi ở da ở Cyno: 2 thí nghiệm độc lập - tổng cộng 4 thể cho).

Hình 12. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích NIH-3T3. Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột (●) hoặc Đối chứng isotyp_2 (■) được ủ với mIL-1 β , hIL-33 hoặc NIH-3T3 được kích thích bằng mIL-36s. Các đồ thị thể hiện các đường cong ức chế hồi quy sigmoid phi tuyến tính cho từng kích thích. Mỗi điểm dữ liệu đại diện cho một phép đo.

Hình 13. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế giải phóng IL-5 trong huyết thanh chuột 24 giờ sau tiêm interleukin. C57BL/6JRj ở chuột được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0. Hai giờ sau khi tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 24 giờ sau lần tiêm thuốc thứ nhất, chuột được làm chết. Huyết thanh chuột được thu lại để phân tích Luminex. Định lượng giải phóng IL-5. Dữ liệu từ nghiên cứu Bely_4.

Hình 14. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế giải phóng IL-5 trong huyết thanh chuột sau 72 giờ tiêm interleukin. Chuột C57BL/6JRj được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0, ngày 1 và ngày 2. Hai giờ sau khi tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 72 giờ sau lần tiêm thuốc thứ nhất, những con chuột đã chết. Huyết thanh chuột được thu lại để phân tích Luminex. Định lượng giải phóng IL-5.

Dữ liệu từ nghiên cứu Bely_5.

Hình 15. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế giải phóng Gro-alpha trong huyết thanh chuột sau 72 giờ tiêm interleukin. Chuột C57BL/6JRj được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0, ngày 1 và ngày 2. Hai giờ sau khi tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 72 giờ sau lần tiêm thuốc thứ nhất, những con chuột đã chết. Huyết thanh chuột được thu lại để phân tích Luminex. Định lượng giải phóng Gro-alpha. Dữ liệu từ nghiên cứu Bely_5.

Hình 16. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột cảm ứng việc giảm đáng kể tỷ lệ và điểm tổn thương trong mô hình Viêm da giống như bệnh vẩy nến. Lưng của những con chuột đã được cạo lông và cả hai tai được bôi kem IMQ 5% (Aldara®) hàng ngày với liều lượng IMQ trong 7 đến 14 ngày liên tục. Các vùng da được điều trị bằng IMQ được phủ bằng băng Tegaderm™ mờ đục vô trùng như phương tiện để bảo vệ vùng bôi ngoài da. Các phương pháp điều trị được thực hiện trên chuột qua đường trong màng bụng ba ngày một lần đối với tất cả các phân tử ngoại trừ Anakinra, được tiêm qua đường trong màng bụng mỗi ngày. Chuột được kiểm tra thể chất hàng ngày và điểm số PASI (Khu vực bệnh vẩy nến và Chỉ số mức độ nghiêm trọng) được áp dụng như sau:

Ban đỏ (kích ứng/đỏ da) và hình thành vảy (vảy) (điểm 1-4)/Thang điểm mức độ nghiêm trọng và mở rộng quy mô (điểm 1-4). Dữ liệu từ nghiên cứu IMQ_s2.

Hình 17. Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong mô hình chuột bị viêm da giống bệnh vẩy nến. Lưng của những con chuột đã được cạo lông và cả hai tai được bôi kem IMQ 5% (Aldara®) hàng ngày với liều lượng IMQ trong 12 ngày liên tiếp. Các vùng da được điều trị bằng IMQ được phủ bằng băng Tegaderm™ mờ đục vô trùng như phương tiện để bảo vệ vùng bôi ngoài da. Các phương pháp điều trị được thực hiện trên chuột qua đường trong màng bụng ba ngày một lần đối với tất cả các phân tử ngoại trừ Anakinra, được tiêm qua đường trong màng bụng mỗi ngày. Chuột được kiểm tra thể chất hàng ngày và điểm số PASI (Khu vực bệnh vẩy nến và Chỉ số mức độ nghiêm trọng) được áp dụng như sau: Ban đỏ (kích ứng/đỏ da) và hình thành vảy (vảy) (điểm 1-4)/Thang điểm mức độ nghiêm trọng và mở rộng quy mô (điểm 1-4). Khi kết thúc nghiên cứu, IHC được thực hiện trên da lưng. Định lượng bệnh gai đen được thực hiện trên 4 mẫu da trên mỗi tấm kính trên mỗi con chuột/10 ảnh trên mỗi tấm kính. Dữ liệu từ nghiên cứu IMQ_s2.

Hình 18. Hình ảnh mô học thực hiện trên da lưng chuột. Chuột được điều trị bằng Imiquimod và PBS (A), Đối chứng isotyp_3 (B), Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 1 mg (C), Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 250ug (D), Anakinra (E), mIL36Ra (F) hoặc chuột không được điều trị (G). Dữ liệu từ nghiên cứu IMQ_s2.

Hình 19. (A) Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc liều tối đa của Đối chứng isotyp_4 (■) được ủ trong máu toàn phần ở người với 5 ng/ml IL-1 α hoặc 5 ng/ml IL-1 β . Các đồ thị thể hiện tác dụng ức chế của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người đối với mỗi lần đọc. Mỗi điểm là giá trị trung bình của tỷ lệ phần trăm ức chế +/- Khoảng tin cậy đối với thể cho đã thể hiện chỉ số kích thích vượt trội gấp 3 lần so với đường cơ sở (SI > 3). Ba thí nghiệm độc lập đã được thực hiện với tổng số 15 thể cho được thử nghiệm. (B) Bảng hiển thị số lượng thể cho phản hồi (SI > 3 so với đường cơ sở) có trong biểu đồ cho mỗi lần kích thích và mỗi lần đọc trong số 15 thể cho được thử nghiệm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế này đề xuất các kháng thể, bao gồm các kháng thể được nhân hóa, liên kết đặc hiệu IL1RAP ở người với ái lực cao. Các kháng thể kháng IL1RAP được bộc lộ có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc ngăn chặn hoàn toàn truyền tín hiệu nội bào bằng

các con đường được điều hòa bởi IL1RAP, bao gồm các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và/hoặc IL-36. Cụ thể hơn, các kháng thể kháng IL1RAP được bộc lộ trong bản mô tả này có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc ngăn chặn hoàn toàn truyền tín hiệu được kích thích bằng cách liên kết với một hoặc nhiều chất chủ vận sau: IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và IL-36 γ . Sáng chế này cũng đề xuất việc sử dụng các kháng thể kháng IL1RAP trong các phương pháp điều trị các bệnh được điều hòa bởi IL1RAP, bao gồm các bệnh và tình trạng đáp ứng với sự ức chế truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36, bao gồm, nhưng không giới hạn ở các bệnh ung thư khác nhau (ví dụ, vú, đại trực tràng, phổi không phải tế bào nhỏ, tuyến tụy), cũng như các bệnh viêm, nhiễm trùng và tự miễn dịch.

Tổng quan về thuật ngữ và kỹ thuật

Như được sử dụng trong bản mô tả này và các yêu cầu bảo hộ kèm theo, mao từ dạng số ít gồm cả dạng số nhiều trừ khi được chỉ rõ trong ngữ cảnh khác. Vì vậy, ví dụ, việc đề cập đến “loại protein” bao gồm nhiều hơn một loại protein, và việc đề cập đến “hợp chất” có nghĩa là nhiều hơn một hợp chất. Việc sử dụng “bao gồm,” “bao gồm,” “bao gồm,” “gồm có,” “gồm có,” và “gồm có” có thể hoán đổi cho nhau và không có ý định hạn chế. Cần hiểu rõ hơn rằng khi các mô tả về các phương án khác nhau sử dụng thuật ngữ “bao gồm,” thì những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng trong một số trường hợp cụ thể, phương án có thể được mô tả theo cách khác bằng cách sử dụng ngôn ngữ “về cơ bản bao gồm” hoặc “bao gồm.”

Khi phạm vi giá trị được cung cấp, trừ khi ngữ cảnh quy định rõ ràng khác, điều đó được hiểu là mỗi số nguyên can thiệp của giá trị và mỗi phần mười của mỗi số nguyên xen kẽ của giá trị, trừ khi ngữ cảnh quy định rõ ràng khác, giữa giới hạn trên và dưới của phạm vi đó, và bất kỳ giá trị đã nêu hoặc can thiệp nào khác trong phạm vi đã nêu đó, đều được bao gồm trong sáng chế. Các giới hạn trên và dưới của các phạm vi nhỏ hơn này có thể được bao gồm cách độc lập trong các phạm vi nhỏ hơn và cũng được bao gồm trong sáng chế, tùy thuộc vào bất kỳ giới hạn bị loại trừ cụ thể nào trong phạm vi đã nêu. Trong khoảng giá trị đã nêu bao gồm một hoặc cả hai giới hạn, khoảng giá trị loại trừ một hoặc cả hai giới hạn được bao gồm cũng được bao gồm trong sáng chế. Ví dụ, “1 đến 50,” bao gồm “2 đến 25,” “5 đến 20,” “25 đến 50,” “1 đến 10,” v.v..

Nói chung, thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này cũng như các kỹ thuật và quy trình được mô tả trong bản mô tả này bao gồm những thuật ngữ và quy trình

được hiểu rõ và thường được sử dụng bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, chẳng hạn như các kỹ thuật và phương pháp phổ biến được mô tả trong Sambrook và cộng sự, *Molecular Cloning-A Laboratory Manual* (Tái bản lần 2), Tập. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1989 (sau đây gọi là “Sambrook”); Các giao thức hiện tại trong sinh học phân tử, FM Ausubel và cộng sự, eds., *Current Protocols*, liên doanh giữa Greene Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc. (được bổ sung đến năm 2011) (sau đây gọi là “Ausubel”); *Antibody Engineering*, Tập 1 và 2, R. Kontermann và S. Dubel, chủ biên, Springer- Verlag, Berlin và Heidelberg (2010); *Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols*, V. Ossipow và N. Fischer, eds., 2nd Ed., Humana Press (2014); *Therapeutic Antibodies: From Bench to Clinic*, Z. An, chủ biên, J. Wiley & Sons, Hoboken, NJ (2009). và *Phage Display*, Tim Clackson và Henry B. Lowman, chủ biên, Nhà xuất bản Đại học Oxford, Vương quốc Anh (2004).

Tất cả các công bố, bằng sáng chế, đơn xin cấp bằng sáng chế và các tài liệu khác được tham chiếu trong sáng chế này đều được kết hợp bằng cách tham chiếu toàn bộ cho tất cả các mục đích trong cùng phạm vi như thể mỗi công bố, bằng sáng chế, đơn đăng ký bằng sáng chế hoặc tài liệu khác được chỉ định riêng lẻ để được kết hợp bởi tài liệu tham khảo trong bản mô tả này cho tất cả các mục đích.

Trừ khi được chỉ ra theo cách khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này có cùng một nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực liên quan đến sáng chế. Cũng cần hiểu rằng, các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này chỉ được dùng với mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Vì mục đích giải thích sáng chế này, mô tả các thuật ngữ sau đây sẽ được áp dụng và, khi thích hợp, thuật ngữ được sử dụng ở dạng số ít cũng sẽ bao gồm ở dạng số nhiều và ngược lại.

“IL1RAP,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến protein phụ của thụ thể interleukin-1 là đồng thụ thể màng tế bào cho một số thụ thể của họ IL-1, bao gồm thụ thể 1 interleukin-1 (IL1R1), ST2 (còn được gọi là interleukin-1 giống thụ thể 1 hoặc IL1RL1) và protein giống thụ thể 2 interleukin-1 (IL1RL2). Cần lưu ý rằng protein phụ của thụ thể interleukin-1, hoặc IL1RAP, đôi khi được gọi trong lĩnh vực này là “IL-1RAP,” “IL-1RACp,” “IL1RACp” hoặc “IL-1R3.” Các thuật ngữ “IL1RAP,” “IL-1Rap” và “protein IL1RAP” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này.

“Tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP” hoặc “Bệnh được điều hòa bởi IL1RAP,” như được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm tình trạng bệnh lý bất kỳ liên quan đến chức năng bất thường của các con đường truyền tín hiệu được điều hòa bởi họ các cytokin IL-1 cùng với IL1RAP đóng vai trò là đồng thụ thể, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các con đường truyền tín hiệu xuôi dòng được kích thích bởi các cytokin họ IL-1 là IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ . Ví dụ, các bệnh được điều hòa bởi IL1RAP có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các bệnh được điều hòa bởi và/hoặc đáp ứng với các chất đối vận hoặc ức chế các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và/hoặc IL-36 bao gồm ung thư, viêm, nhiễm trùng, và các bệnh tự miễn dịch. Cụ thể hơn, bệnh được điều hòa bởi IL1RAP có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở mụn trứng cá, viêm loét đại tràng nặng cấp tính, bệnh Still khởi phát ở người lớn, viêm mũi dị ứng, viêm khớp do gút, viêm khớp vị thành niên, viêm xương khớp, viêm khớp dạng thấp, xơ cứng hệ thống, đau do viêm khớp, hen suyễn, xơ vữa động mạch, chàm dị ứng, bệnh Behcet, chứng suy mòn, ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, ung thư tuyến tụy, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, hội chứng khô mắt, hội chứng tự viêm do cảm lạnh có tính chất gia đình, sốt Địa Trung Hải có tính chất gia đình, dị ứng thực phẩm, bệnh vảy nến mụn mủ toàn thân, viêm tuyến mồ hôi mủ, hội chứng tăng IgD, tăng axit uric máu, hội chứng Muckle-Wells, bệnh viêm đa hệ thống khởi phát ở trẻ sơ sinh, đau cơ xương, mụn mủ lòng bàn tay, bệnh mạch máu ngoại biên, đau đa cơ do thấp khớp, polyp mũi, bệnh vảy nến, viêm mủ da hoại thư, tái hẹp, thiếu máu hồng cầu hình liềm, viêm xoang, thụ thể TNF liên quan đến hội chứng định kỳ, bệnh tiểu đường loại 2 và viêm loét đại tràng.

“Tín hiệu được kích thích IL-1,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến tín hiệu nội bào được khơi mào bằng cách liên kết xytokin IL-1, chẳng hạn như IL-1 α hoặc IL-1 β , với thụ thể bề mặt tế bào cùng nguồn gốc của nó, IL1R1. Các tín hiệu được kích thích IL-1 được lấy làm ví dụ bao gồm các tín hiệu có thể đo được bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào, chẳng hạn như các tín hiệu được bộc lộ trong phần Ví dụ trong bản mô tả này.

“Tín hiệu được kích thích IL-33,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến tín hiệu nội bào được khơi mào bằng cách liên kết xytokin IL-33, như IL-33, với thụ thể bề mặt tế bào cùng nguồn gốc của nó, IL1RL1 (còn được gọi là ST2). Các tín hiệu được kích thích IL-33 được lấy làm ví dụ bao gồm các tín hiệu có thể đo lường

được bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào, chẳng hạn như các tín hiệu được bộc lộ trong phần Ví dụ trong bản mô tả này.

“Tín hiệu được kích thích IL-36,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến tín hiệu nội bào được khơi mào bằng cách liên kết của cytokin IL-36, chẳng hạn như IL-36 α , IL-36 β , hoặc IL-36 γ , với thụ thể bề mặt tế bào cùng nguồn gốc của nó, IL1RL2. Các tín hiệu được kích thích IL-36 được lấy làm ví dụ bao gồm các tín hiệu được đo bằng các xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào thay thế, chẳng hạn như các tín hiệu được bộc lộ trong phần Ví dụ trong bản mô tả này.

“Xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào” đề cập đến xét nghiệm trong đó có thể đo được khả năng của kháng thể ức chế hoặc làm giảm hoạt tính sinh học của kháng nguyên mà nó liên kết. Ví dụ, có thể sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào để đo nồng độ kháng thể cần thiết để ức chế chức năng sinh học hoặc sinh hóa cụ thể, chẳng hạn như truyền tín hiệu nội bào được điều hòa bởi IL1RAP thông qua các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và IL-36. Theo một số phương án, nồng độ ức chế bán tối đa (IC50) và/hoặc nồng độ ức chế 90% (IC90) của kháng thể (ví dụ, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này) được đo bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào. Theo một số phương án, xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào được sử dụng để xác định xem liệu kháng thể có ngăn chặn sự tương tác giữa chất chủ vận (ví dụ, IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ) và thụ thể cùng nguồn gốc của nó. Xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào hữu ích với các kháng thể theo sáng chế này có thể bao gồm xét nghiệm tế bào sơ cấp (ví dụ, tế bào HaCaT) cũng như xét nghiệm tế bào báo cáo hoặc tế bào cảm biến. Các xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào được lấy làm ví dụ cho các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và IL-36, chẳng hạn như các thử nghiệm được mô tả trong các Ví dụ đề xuất trong bản mô tả này.

“Kháng thể,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến phân tử bao gồm một hoặc nhiều chuỗi polypeptit liên kết đặc hiệu với, hoặc có phản ứng miễn dịch với, kháng nguyên cụ thể. Các kháng thể được lấy làm ví dụ theo sáng chế này bao gồm các kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, kháng thể khảm, kháng thể được nhân hóa, kháng thể ở người, kháng thể đa đặc hiệu (hoặc dị liên hợp) (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép), kháng thể đơn hóa trị (ví dụ, kháng thể một nhánh), kháng thể đa giá trị, các mảnh liên kết kháng nguyên (ví dụ, các mảnh Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG, và scFv), dung hợp kháng thể, và kháng thể tổng hợp (hoặc thể mô phỏng kháng thể).

“Kháng thể kháng IL1RAP” hoặc “kháng thể liên kết IL1RAP” đề cập đến kháng thể liên kết IL1RAP với đủ ái lực sao cho kháng thể này hữu ích với vai trò là tác nhân chẩn đoán và/hoặc trị liệu khi hướng đích đến IL1RAP. Theo một số phương án, mức độ liên kết của kháng thể kháng IL1RAP với kháng nguyên không liên quan, không phải IL1RAP nhỏ hơn khoảng 10% mức độ liên kết của kháng thể với IL1RAP như được đo, ví dụ, bằng xét nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA). Theo một số phương án, kháng thể liên kết IL1RAP có hằng số phân ly (K_d) với <1 pM, <100 nM, <10 nM, <1 nM, $<0,1$ nM, $<0,01$ nM, hoặc <1 pM (ví dụ, 10^{-8} M hoặc nhỏ hơn, ví dụ từ 10^{-8} M đến 10^{-13} M, ví dụ, từ 10^{-9} M đến 10^{-13} M).

“Kháng thể có chiều dài đầy đủ,” “kháng thể nguyên vẹn,” hoặc “toàn bộ kháng thể” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này để đề cập đến kháng thể có cấu trúc gần như tương tự với cấu trúc kháng thể tự nhiên hoặc có chuỗi nặng chứa vùng Fc như được xác định trong bản mô tả này.

“Mảnh kháng thể” đề cập đến một phần của kháng thể có chiều dài đầy đủ có khả năng liên kết cùng kháng nguyên với kháng thể có chiều dài đầy đủ. Ví dụ về các mảnh kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; thể đôi; kháng thể tuyến tính; kháng thể đơn hóa trị, hoặc đơn nhánh; các phân tử kháng thể đơn chuỗi (ví dụ, scFv); và kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể.

“Lớp” của kháng thể đề cập đến loại miền hằng định hoặc vùng cố định có trong chuỗi nặng của nó. Có năm loại kháng thể chính: IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, và một số trong số này được chia thành các phân lớp (isotyp), ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2. Các miền hằng định của chuỗi nặng tương ứng với các loại globulin miễn dịch khác nhau được gọi là α , δ , ϵ , γ , và, tương ứng.

“Vùng biến đổi” hoặc “miền biến đổi” đề cập đến miền của chuỗi nặng hoặc nhẹ của kháng thể có liên quan đến việc liên kết kháng thể với kháng nguyên. Các miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (VH và VL, tương ứng) của kháng thể tự nhiên thường có cấu trúc tương tự nhau, với mỗi miền bao gồm bốn vùng khung được bảo toàn (FR) và ba vùng siêu biến đổi (CDR) (xem, ví dụ, Kindt và cộng sự, Ruby Immunology, tái bản lần thứ 6, WH Freeman và Co., trang 91). Miền VH hoặc VL đơn có thể đủ để tạo ra tính liên kết đặc hiệu kháng nguyên. Hơn nữa, các kháng thể liên kết với một kháng nguyên cụ thể có thể được phân lập bằng cách sử dụng miền VH hoặc VL từ kháng thể liên kết với kháng nguyên để sàng lọc thư viện các miền VL hoặc VH bổ sung, tương

ứng (xem, ví dụ, Portolano và cộng sự, *J. Immunol.*, 150:880-887 (1993); Chothia và cộng sự, *Nature* 352:624-628 (1991).

“Vùng siêu biến đổi” hoặc “CDR,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến từng vùng trong số miền biến đổi của kháng thể mà có thể siêu biến đổi theo trình tự và/hoặc tạo thành các vòng được xác định về mặt cấu trúc (“vòng siêu biến”). Nói chung, các kháng thể tự nhiên bao gồm bốn chuỗi với sáu CDR; ba trong miền biến đổi chuỗi nặng, VH (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), và ba trong miền biến đổi chuỗi nhẹ, VL (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Các CDR thường bao gồm các gốc axit amin từ các vòng siêu biến đổi và/hoặc từ “các vùng xác định tính bổ sung” (CDR). Trừ khi có chỉ định khác, các gốc CDR và các gốc khác trong miền biến đổi (ví dụ, các gốc FR) được đánh số trong bản mô tả này theo Rabat và cộng sự, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, tái bản lần thứ 5. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991).

“Vùng xác định tính bổ sung,” hoặc “CDR,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến các vùng trong CDR của miền biến đổi có độ biến đổi trình tự cao nhất và/hoặc liên quan đến việc nhận diện kháng nguyên. Nói chung, các kháng thể tự nhiên bao gồm bốn chuỗi với sáu CDR; ba trong các miền biến đổi chuỗi nặng, VH (H1, H2, H3), và ba trong các miền biến đổi chuỗi nhẹ, VL (L1, L2, L3). Các CDR được lấy làm ví dụ (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3) xuất hiện ở các gốc axit amin 24-34 của L1, 50-56 của L2, 89-97 của L3, 26-35 hoặc 31-35 của H1, 50-65 hoặc 50-65 của H2 và 93-102 hoặc 95-102 của H3. (Rabat và cộng sự, ở trên). Phương pháp thay thế cho Rabat và cộng sự, (ở trên) đã thu thập và sắp xếp trình tự của các thành viên khác nhau của siêu họ globulin miễn dịch, đã được đề xuất như Chothia và cộng sự, (*Chothia - J Mol Biol.* 20 tháng 8 năm 1987;196(4):901-17 và *Nature*. 21-28 tháng 12 năm 1989; 342(6252):877-83.) và Lefranc và cộng sự, (*IMGT - Nucleic Acids Res.* 1 tháng 1 năm 1999;27(1):209-12.) người đã đề xuất sơ đồ đánh số thống nhất cho trình tự dòng mầm miền biến đổi globulin miễn dịch. Tất cả các định nghĩa thay thế như vậy được bao gồm trong sáng chế hiện tại và các trình tự được đề xuất trong thông số kỹ thuật này không nhằm mục đích loại trừ các trình tự CDR được xác định theo cách khác mà chỉ có thể bao gồm một phần của các trình tự CDR đề xuất trong danh sách trình tự. Cụ thể là các trình tự CDR theo Chothia và cộng sự, xuất hiện ở các gốc axit amin 26-31 của H1, 52-65 của H2 và 95-102 của H3;

Cụ thể là các trình tự CDR phù hợp với LeFranc và cộng sự, xuất hiện ở các gốc axit amin 27-38 của H1, 56-65 của H2 và 105-117 của H3.

“Khung” hoặc “FR” đề cập đến các gốc miền biến đổi khác với các gốc vùng siêu biến đổi (CDR). FR của miền biến thường bao gồm bốn miền FR: FR1, FR2, FR3, và FR4. Theo đó, trình tự CDR và FR thường xuất hiện theo trình tự sau trong VH (hoặc VL): FR1-H1 (L1)-FR2- H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

“Kháng thể tự nhiên” đề cập đến phân tử globulin miễn dịch xuất hiện tự nhiên. Ví dụ, các kháng thể IgG tự nhiên là các glycoprotein dị loại khoảng 150.000 Dalton, bao gồm hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau và hai chuỗi nặng giống hệt nhau được liên kết bằng disulfua. Từ đầu N đến C, mỗi chuỗi nặng có vùng biến đổi (VH), còn được gọi là miền biến đổi nặng hoặc miền biến đổi chuỗi nặng, theo sau là ba miền hằng định (CH1, CH2 và CH3). Tương tự, từ đầu N đến C, mỗi chuỗi nhẹ có vùng biến đổi (VL), còn được gọi là miền biến đổi nhẹ hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ, theo sau là miền hằng định nhẹ (CL). Chuỗi nhẹ của kháng thể có thể được chỉ định cho một trong hai loại, được gọi là kapa (K) và lamda (A), dựa trên trình tự axit amin trong miền hằng định của nó.

“Kháng thể đơn dòng” như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến kháng thể thu được từ quần thể kháng thể gần như đồng nhất, nghĩa là, các kháng thể riêng lẻ bao gồm quần thể giống hệt nhau và/hoặc liên kết cùng quyết định kháng nguyên, ngoại trừ các kháng thể biến thể có thể có (ví dụ, kháng thể biến thể chứa đột biến xảy ra tự nhiên hoặc phát sinh trong quá trình sản xuất kháng thể đơn dòng và thường có mặt với lượng nhỏ). Trái ngược với chế phẩm kháng thể đa dòng, mà thường bao gồm các kháng thể trực tiếp chống lại yếu tố quyết định khác nhau (quyết định kháng nguyên), mỗi kháng thể đơn dòng của chế phẩm kháng thể đơn dòng được trực tiếp chống lại yếu tố quyết định đơn trên kháng nguyên. Như vậy, từ bỏ nghĩa "đơn dòng" dùng để chỉ đặc tính của kháng thể như được thu được từ quần thể về cơ bản đồng nhất của kháng thể và không được hiểu là yêu cầu sản xuất của kháng thể bằng phương pháp cụ thể. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng được sử dụng có thể được tạo ra bằng nhiều kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở phương pháp tế bào lai, phương pháp ADN tái tổ hợp, phương pháp hiển thị phago, và phương pháp sử dụng động vật chuyển gen chứa tất cả hoặc một phần locut globulin miễn dịch ở người, các phương pháp này và các phương pháp được lấy làm ví dụ khác để tạo ra các kháng thể đơn dòng được mô tả trong bản mô tả này.

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

“Kháng thể được nhân hóa” đề cập đến kháng thể khảm bao gồm các trình tự axit amin từ các CDR không phải ở người và các trình tự axit amin từ các FR ở người. Theo các phương án nhất định, kháng thể được nhân hóa sẽ bao gồm gần như tất cả của ít nhất một, và cụ thể là hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc gần như tất cả các CDR (ví dụ, các CDR) tương ứng với các kháng thể không phải ở người và tất cả hoặc gần như tất cả các FR tương ứng là kháng thể ở người. Kháng thể được nhân hóa có thể bao gồm ít nhất một phần của vùng cố định kháng thể thu được từ kháng thể ở người. “Dạng được nhân hóa” của kháng thể, ví dụ, kháng thể không phải ở người, đề cập đến kháng thể đã trải qua quá trình nhân hóa.

“Kháng thể ở người” đề cập đến kháng thể có trình tự axit amin tương ứng với trình tự của kháng thể ở người hoặc tế bào người tạo ra hoặc có nguồn gốc từ nguồn không phải ở người sử dụng các cơ chế kháng thể ở người hoặc các trình tự mã hóa kháng thể khác ở người. Định nghĩa này về kháng thể ở người đặc biệt loại trừ kháng thể được nhân hóa bao gồm các gốc liên kết với kháng nguyên không phải ở người.

“Khung liên ứng ở người” là khung đại diện cho các gốc axit amin xuất hiện phổ biến nhất trong chọn lọc các trình tự khung VL hoặc VH của globulin miễn dịch ở người. Nói chung, việc chọn lọc các trình tự VL hoặc VH của globulin miễn dịch ở người là từ phân nhóm của các trình tự miền biến đổi. Nói chung, phân nhóm của các trình tự là phân nhóm như trong Rabat và cộng sự, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Tái bản lần thứ năm, NIH Publication 91-3242, Bethesda Md. (1991), tập 1-3. Theo một phương án, đối với VL, phân nhóm là phân nhóm kapa I như trong Rabat và cộng sự, ở trên. Theo một phương án, đối với VH, phân nhóm là phân nhóm III như trong Rabat và cộng sự, ở trên.

“Khung chất nhận ở người” như được sử dụng trong bản mô tả này là khung bao gồm trình tự axit amin của khung miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) hoặc khung miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có nguồn gốc từ khung globulin miễn dịch ở người hoặc khung liên ứng ở người. Khung chất nhận ở người “có nguồn gốc từ” khung globulin miễn dịch ở người hoặc khung liên ứng ở người có thể bao gồm cùng trình tự axit amin của nó, hoặc nó có thể chứa các thay đổi trình tự axit amin. Theo một số phương án, số lượng

axit amin thay đổi là 10 hoặc ít hơn, 9 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 7 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 5 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, 3 hoặc ít hơn, hoặc 2 hoặc ít hơn. Theo một số phương án, khung chất nhận VL ở người có trình tự giống hệt với trình tự khung globulin miễn dịch VL ở người hoặc trình tự khung liên ứng ở người.

“Vùng Fc,” đề cập đến phức hợp dime bao gồm các trình tự polypeptit ở đầu C của chuỗi nặng globulin miễn dịch, trong đó trình tự polypeptit ở đầu C là trình tự có thể thu được bằng cách tiêu hóa papain của kháng thể nguyên vẹn. Vùng Fc có thể bao gồm các trình tự Fc gốc hoặc biến thể. Mặc dù ranh giới của trình tự Fc của chuỗi nặng globulin miễn dịch có thể thay đổi, trình tự Fc chuỗi nặng IgG ở người thường được xác định là dài từ các gốc axit amin ở vị trí Cys226, hoặc từ vị trí Pro230, đến đầu carboxyl của trình tự Fc ở Lys447. Tuy nhiên, lysin ở đầu C (Lys447) của trình tự Fc có thể có hoặc không có mặt trong vùng Fc của kháng thể tái tổ hợp do sự phân cắt bằng enzym có thể xảy ra trong hệ thống dịch nuôi cấy tế bào được sử dụng để sản xuất tái tổ hợp (ví dụ, sản xuất trong tế bào CHO). Trình tự Fc của globulin miễn dịch thường bao gồm hai miền hằng định, miền CH2 và miền CH3, và tùy ý bao gồm miền CH4.

“Thụ thể Fc” hoặc “FcR” đề cập đến thụ thể mà liên kết với vùng Fc của kháng thể. Theo một số phương án, FcR là FcR ở người bản địa. Theo một số phương án, FcR là một liên kết kháng thể IgG (thụ thể gama) và bao gồm thụ thể của phân lớp FcγRI, FcγRII, và FcγRIII, bao gồm biến thể alen và dạng được cắt xen kẽ khác của các thụ thể này. Thụ thể FcγRII bao gồm FcγRIIA (“thụ thể hoạt hóa”) và FcγRIIB (“thụ thể ức chế”), có trình tự axit amin tương tự chủ yếu mà khác nhau chủ yếu miền tế bào chất của chúng. Thụ thể hoạt hóa FcγRIIA chứa mô típ hoạt hóa trên cơ sở tyrosin thụ thể miễn dịch (ITAM) trong miền tế bào chất của nó. Thụ thể ức chế FcγRIIB chứa mô típ ức chế dựa trên cơ sở tyrosin thụ thể miễn dịch (ITIM) trong miền tế bào chất của nó, (xem, ví dụ, Daeron, *Annu. Rev. Immunol.*, 15:203-234 (1997)). FcR, như được sử dụng trong bản mô tả này, cũng bao gồm thụ thể sơ sinh, FcRn, chịu trách nhiệm truyền các IgG của mẹ sang thai nhi (Guyer và cộng sự, *J. Immunol.*, 1 17:587 (1976) và Kim và cộng sự, *Eur. J. Immunol.*, 24:2429-2434 (1994)) và quy định cân bằng nội môi của globulin miễn dịch. FcRs được xem xét, ví dụ, trong Ravetch và Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-92 (1991); Capel và cộng sự, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); và de Haas và cộng sự, *J. Lab. Clin. Med.*, 126:330-41 (1995).

“Kháng thể đa hóa trị,” như được sử dụng trong bản mô tả này, là kháng thể bao gồm ba hoặc nhiều vị trí liên kết kháng nguyên. Kháng thể đa hóa trị tốt hơn là được thiết kế để có ba hoặc nhiều hơn vị trí liên kết kháng nguyên và thường không phải là kháng thể IgM hoặc IgA trình tự tự nhiên.

“Kháng thể đa đặc hiệu” là kháng thể có ít nhất hai vị trí liên kết khác nhau, mỗi vị trí có tính liên kết đặc hiệu khác nhau. Kháng thể đa đặc hiệu có thể là kháng thể có chiều dài đầy đủ hoặc mảnh kháng thể và các vị trí liên kết khác nhau có thể liên kết từng vị trí với kháng nguyên khác nhau hoặc các vị trí liên kết khác nhau có thể liên kết với hai vị trí quyết định kháng nguyên khác nhau của cùng một kháng nguyên.

“Mảnh Fv” đề cập đến mảnh kháng thể chứa vị trí nhận diện và liên kết kháng nguyên hoàn chỉnh. Vùng này bao gồm dime của miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ liên kết chặt chẽ với nhau, có thể có bản chất cộng hóa trị, ví dụ như trong scFv. Chính trong cấu hình này ba CDR của mỗi miền biến đổi tương tác để xác định vị trí liên kết kháng nguyên trên bề mặt của dime VH-VL. Nói chung, sáu CDR hoặc tập hợp con của chúng tạo nên tính liên kết đặc hiệu kháng nguyên với kháng thể. Tuy nhiên, thậm chí miền biến đổi đơn (một nửa của Fv chỉ chứa ba CDR đặc hiệu với kháng nguyên) cũng có khả năng nhận diện và liên kết kháng nguyên, mặc dù ở ái lực thấp hơn so với toàn bộ vùng liên kết.

“Mảnh Fab” đề cập đến mảnh kháng thể chứa miền biến đổi và hằng định của chuỗi nhẹ cũng như miền biến đổi và miền hằng định thứ nhất (CHI) của chuỗi nặng. “Các mảnh F(ab')₂” bao gồm cặp mảnh Fab thường được liên kết cộng hóa trị gần đầu carboxy của chúng bằng cách xoay bản lề các cystein giữa chúng. Các cách ghép nối hóa học khác của các mảnh kháng thể cũng đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

“Nhánh liên kết kháng nguyên,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến thành phần của kháng thể có khả năng liên kết đặc hiệu với phân tử đích cần quan tâm. Thông thường, nhánh liên kết kháng nguyên là phức hợp gồm các trình tự polypeptit của globulin miễn dịch, ví dụ, CDR và/hoặc các trình tự miền biến đổi của chuỗi nhẹ và nặng globulin miễn dịch.

“Fv chuỗi đơn” hoặc “scFv” đề cập đến các mảnh kháng thể bao gồm các miền VH và VL của kháng thể, trong đó các miền này có mặt trong chuỗi polypeptit đơn lẻ. Nói chung, polypeptit Fv còn bao gồm trình tự liên kết polypeptit giữa miền VH và VL mà cho phép scFv tạo thành cấu trúc liên kết kháng nguyên mong muốn.

“Thể đôi” đề cập đến các mảnh kháng thể nhỏ có hai vị trí liên kết kháng nguyên, các mảnh này bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) được kết nối với miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) trong cùng chuỗi polypeptit (VH và VL). Bằng cách sử dụng liên kết quá ngắn để cho phép bắt cặp giữa hai miền trên cùng chuỗi, các miền buộc phải bắt cặp với các miền bổ sung của chuỗi khác và tạo ra hai vị trí liên kết kháng nguyên.

“Kháng thể tuyến tính” đề cập đến các kháng thể được mô tả trong Zapata và cộng sự. Protein Eng., 8(10): 1057-1062 (1995). Tóm lại, các kháng thể này bao gồm các đoạn lặp lại song song của mảnh chuỗi nặng (VH-CH1-VH-CH1), cùng với các polypeptit chuỗi nhẹ bổ sung, tạo thành cặp vùng liên kết kháng nguyên. Kháng thể tuyến tính có thể là đặc hiệu kép hoặc đặc hiệu đơn.

“Kháng thể trần” đề cập đến kháng thể không được liên hợp với gốc khác loại (ví dụ, gốc gây độc tế bào) hoặc nhãn phóng xạ.

“Ái lực” đề cập đến độ mạnh của tổng số tương tác không cộng hóa trị giữa vị trí liên kết đơn của phân tử (ví dụ, kháng thể) và đối tác liên kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). “Ái lực liên kết” đề cập đến ái lực liên kết nội tại phản ánh tương tác 1:1 giữa các thành viên của cặp liên kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên). Ái lực của phân tử X đối với đối tác Y của nó thường có thể được biểu thị bằng hằng số phân ly cân bằng (KD). Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp phổ biến đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Các phương án minh họa và được lấy làm ví dụ cụ thể để đo ái lực liên kết được mô tả dưới đây.

“Liên kết đặc hiệu” hoặc “liên kết đặc hiệu” đề cập đến sự liên kết của kháng thể với kháng nguyên có giá trị ái lực không quá khoảng 1×10^{-7} M.

Kháng thể “đã trưởng thành về ái lực” đề cập đến kháng thể có một hoặc nhiều thay đổi trong một hoặc nhiều CDR, so với kháng thể ban đầu không có những thay đổi như vậy, những thay đổi như vậy dẫn đến cải thiện ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên.

“Vị trí có chức năng liên kết kháng nguyên” của kháng thể là vị trí có khả năng liên kết kháng nguyên đích. Ái lực liên kết kháng nguyên của vị trí liên kết kháng nguyên không nhất thiết phải mạnh bằng kháng thể ban đầu mà từ đó vị trí liên kết kháng nguyên được tạo ra, nhưng khả năng liên kết kháng nguyên phải được đo bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp đã biết để đánh giá khả năng liên kết của kháng thể với kháng nguyên.

“Kháng thể được phân lập” đề cập đến kháng thể đã được tách ra khỏi thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Theo một số phương án, kháng thể được tinh chế đến độ tinh khiết lớn hơn 95% hoặc 99% như được xác định bằng, ví dụ, điện di (ví dụ, SDS-PAGE, tập trung đẳng điện (IEF), điện di mao quản) hoặc phương pháp sắc ký (ví dụ, trao đổi ion hoặc HPLC đảo pha). Để xem xét các phương pháp đánh giá độ tinh khiết của kháng thể, xem, ví dụ, Flatman và cộng sự, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol Biomed Life Sci*, 848:79-87.

“Về cơ bản tương tự” hoặc “về cơ bản giống nhau,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến mức độ tương tự đủ cao giữa hai giá trị số (ví dụ, một giá trị được liên quan đến kháng thể thử nghiệm và giá trị kia liên quan đến kháng thể tham chiếu), sao cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ coi sự khác biệt giữa hai giá trị là ít hoặc không có ý nghĩa sinh học và/hoặc thống kê trong bối cảnh đặc tính sinh học được đo bằng các giá trị đã nêu (ví dụ, giá trị KD).

“Khác biệt cơ bản,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến mức độ khác biệt đủ lớn giữa hai giá trị số (thường là một giá trị được liên kết với phân tử và giá trị kia được liên kết với phân tử tham chiếu) sao cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ xem xét sự khác biệt giữa hai giá trị có ý nghĩa thống kê trong bối cảnh đặc tính sinh học được đo bằng các giá trị đã nêu (ví dụ, giá trị KD).

“Chức năng phản ứng với kích thích” đề cập đến các hoạt tính sinh học có thể quy cho vùng Fc của kháng thể, thay đổi theo isotyp của kháng thể. Ví dụ chức năng phản ứng với kích thích của kháng thể có thể bao gồm: Gây độc tế bào phụ thuộc Clq liên kết và bổ sung (CDC); Liên kết với thụ thể Fc; gây độc tế bào được điều hòa bởi tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC); thực bào; sự điều hòa làm giảm lượng thụ thể trên bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B); và hoạt hóa tế bào B.

“Liên hợp miễn dịch” đề cập đến kháng thể được liên hợp với một hoặc nhiều (các) phân tử khác loại, bao gồm nhưng không giới hạn ở tác nhân gây độc tế bào.

“Sự điều trị” “điều trị” hoặc “quá trình điều trị” đề cập đến can thiệp lâm sàng nhằm cố gắng thay đổi tiến trình tự nhiên của rối loạn ở cá nhân được điều trị và có thể được thực hiện để dự phòng hoặc trong quá trình điều trị bệnh lý lâm sàng. Kết quả điều trị mong muốn có thể bao gồm, nhưng không giới hạn, ngăn ngừa sự xuất hiện hoặc tái phát của rối loạn, làm giảm các triệu chứng, giảm thiểu hậu quả bệnh lý trực tiếp hoặc gián tiếp bất kỳ của rối loạn, ngăn ngừa di căn, giảm tốc độ tiến triển, cải thiện hoặc

giảm nhẹ trạng thái bệnh, và sự thuyên giảm hoặc tiên lượng được cải thiện. Ví dụ, việc điều trị có thể bao gồm sử dụng lượng có hiệu quả trị liệu của công thức được chứa kháng thể kháng IL1RAP cho đối tượng để làm chậm sự phát triển hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP.

“Công thức được” đề cập đến chế phẩm ở dạng cho phép hoạt tính sinh học của (các) thành phần hoạt chất có hiệu quả và không chứa các thành phần bổ sung gây độc cho các đối tượng mà công thức đó được sử dụng.

“Chất mang được dụng” đề cập đến thành phần trong công thức được, không phải là thành phần hoạt chất, không gây độc cho đối tượng mà nó được sử dụng. Chất mang được dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất đệm, tá dược, chất ổn định hoặc chất bảo quản.

“Lượng có hiệu quả trị liệu” đề cập đến lượng của thành phần hoạt chất hoặc tác nhân (ví dụ, công thức được) để đạt được kết quả trị liệu hoặc phòng bệnh mong muốn, ví dụ, để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng ở đối tượng. Trong trường hợp bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP, lượng có hiệu quả trị liệu về mặt điều trị của tác nhân trị liệu là lượng làm giảm, ngăn ngừa, ức chế và/hoặc làm giảm ở một số mức độ nào đó một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Đối với điều trị hen suyễn, hiệu quả trong cơ thể có thể, ví dụ, được đo lường bằng cách đánh giá thời gian, mức độ nghiêm trọng và/hoặc sự tái phát của các triệu chứng, tỷ lệ đáp ứng (RR), thời gian đáp ứng, và/hoặc chất lượng cuộc sống.

“Đồng thời,” như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến việc sử dụng hai hoặc nhiều tác nhân trị liệu, trong đó ít nhất một phần của việc sử dụng trùng lặp về thời gian. Theo đó, sử dụng đồng thời bao gồm chế độ dùng thuốc khi tiếp tục sử dụng một hoặc nhiều tác nhân sau khi ngừng sử dụng một hoặc nhiều tác nhân khác.

“Cá nhân” hoặc “đối tượng” đề cập đến động vật có vú, bao gồm nhưng không giới hạn ở động vật được thuần hóa (ví dụ, bò, cừu, mèo, chó và ngựa), động vật linh trưởng (ví dụ, ở người và động vật linh trưởng không phải người như khỉ), thỏ và loài gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt và chuột cống).

Ái lực liên kết và ức chế truyền tín hiệu tế bào của các kháng thể kháng IL1RAP

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP đề xuất trong bản mô tả này có hằng số phân ly cân bằng (KD) để liên kết với IL1RAP ở người là ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, $\leq 0,1$ nM, $\leq 0,01$ nM, hoặc $\leq 0,001$ nM (ví dụ, 10^{-8} M hoặc thấp hơn, ví

dụ, từ 10^{-8} M đến 10^{-13} M, ví dụ, từ 10^{-9} M đến 10^{-13} M). Cụ thể hơn, theo một số phương án, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này liên kết với IL1RAP ở người với ái lực liên kết là 1×10^{-8} M hoặc thấp hơn, 1×10^{-9} M hoặc thấp hơn, 1×10^{-10} M hoặc thấp hơn, hoặc 1×10^{-11} M hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, ái lực liên kết được đo bằng hằng số phân ly cân bằng (KD) để liên kết với polypeptit IL1RAP ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 hoặc 6). Nói chung, ái lực liên kết của phối tử với thụ thể của nó có thể được xác định bằng cách sử dụng xét nghiệm bất kỳ và được biểu thị dưới dạng nhiều giá trị định lượng. Các xét nghiệm liên kết IL1RAP đặc hiệu hữu ích trong việc xác định ái lực của các kháng thể được bộc lộ trong các Ví dụ trong bản mô tả này. Thêm vào đó, các xét nghiệm liên kết kháng nguyên đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm nhưng không giới hạn ở xét nghiệm liên kết trực tiếp hoặc cạnh tranh bất kỳ bằng cách sử dụng các kỹ thuật như Western blots, xét nghiệm miễn dịch phóng xạ, xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA), xét nghiệm miễn dịch “sandwich”, xét nghiệm dựa trên cộng hưởng plasmon bề mặt (chẳng hạn như xét nghiệm BIAcore như được mô tả trong WO2005/012359), xét nghiệm kích thích miễn dịch, xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang và xét nghiệm miễn dịch protein A.

Theo đó, theo một số phương án, ái lực liên kết được biểu thị dưới dạng các giá trị KD và phản ánh ái lực liên kết nội tại (ví dụ, với các hiệu ứng ái lực được giảm thiểu). Các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này thể hiện ái lực liên kết mạnh polypeptit IL1RAP ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 hoặc 6), ví dụ, thể hiện các giá trị KD nằm trong khoảng 10 nM và 1 pM.

Theo một số phương án, các kháng thể kháng IL1RAP được đề xuất trong bản mô tả này làm giảm, ức chế và/hoặc phong tỏa hoàn toàn truyền tín hiệu nội bào bằng các con đường truyền tín hiệu được điều hòa bởi IL1RAP, bao gồm các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36, và nhiều đặc hiệu, các con đường truyền tín hiệu được kích thích bằng cách liên kết một hoặc nhiều chất chủ vận sau: IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và IL-36 γ . Khả năng của các kháng thể ức chế các con đường truyền tín hiệu được điều hòa bởi IL1RAP này có thể được xét nghiệm trong phòng thí nghiệm bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào đã biết bao gồm xét nghiệm tế bào báo cáo và xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào sơ cấp được mô tả trong phần Ví dụ của sáng chế này. Theo một số phương án, khả năng của kháng thể làm giảm,

ức chế và/hoặc ngăn chặn hoàn toàn truyền tín hiệu nội bào được xác định là IC50 của kháng thể bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào báo cáo với (các) chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ ở nồng độ khoảng EC50. Chất chủ vận EC50 thường chỉ có thể được ước tính trước khi xét nghiệm và được xác định sau khi hoàn thành xét nghiệm bằng cách sử dụng phân tích hồi quy phi tuyến tính của dữ liệu. Trong các xét nghiệm như vậy, giá trị khoảng EC50 thường sẽ nằm trong khoảng từ EC40-45 đến EC55-60.

Theo đó, theo một số phương án, các kháng thể IL1RAP theo sáng chế này được đặc trưng bởi một hoặc nhiều đặc tính chức năng sau đây dựa trên khả năng làm giảm, ức chế, và/hoặc chặn hoàn toàn truyền tín hiệu nội bào bằng các con đường được điều hòa bởi IL1RAP.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP làm giảm tín hiệu được kích thích bởi IL-1, tín hiệu được kích thích bởi IL-33, và/hoặc tín hiệu được kích thích bởi IL-36 ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100%. Theo một số phương án, mức giảm tín hiệu có thể được đo bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào báo cáo. Một trong những người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực này có thể chọn xét nghiệm tế bào báo cáo bất kỳ đã biết để sử dụng trong việc xác định sự ức chế truyền tín hiệu tế bào trong con đường được kích thích bởi IL-1, được kích thích bởi IL-33, và/hoặc được kích thích bởi IL-36. Nói chung, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này làm giảm tín hiệu nội bào được điều hòa bởi IL1RAP được khơi mào bằng cách liên kết chất chủ vận ở nồng độ khoảng EC50 (ví dụ, EC40 đến EC60) với giá trị IC50 đối với kháng thể là 10 nM hoặc thấp hơn, 5 nM hoặc thấp hơn, hoặc 1 nM.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP làm giảm tín hiệu được kích thích bởi IL-1, tín hiệu được kích thích bởi IL-33, và tín hiệu được kích thích bởi IL-36 ít nhất là 95%, hoặc ít nhất là 99%; tùy ý, trong đó các tín hiệu kích thích IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36 được kích thích bởi chất chủ vận được chọn từ IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và IL-36 γ ; tùy ý, trong đó ở nồng độ chất chủ vận khoảng EC50 kháng thể có IC50 là 10nM hoặc thấp hơn, 5nM hoặc thấp hơn, hoặc 1nM hoặc thấp hơn.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP làm giảm tín hiệu nội bào được khơi mào bởi một hoặc nhiều chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ liên kết với thụ thể cùng nguồn gốc của nó bởi tại ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99% hoặc 100%. Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP ức chế

IL-1 α , IL-1 β , và/hoặc IL-36 β được kích thích giải phóng IL8 từ nguyên bào sợi phổi sơ cấp ở người (PHLF); tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-1 α , IL-1 β , và/hoặc IL-36 β khoảng EC50 kháng thể có IC50 là 10 nM hoặc thấp hơn, 5 nM hoặc thấp hơn, hoặc 1 nM hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP ức chế sự giải phóng IL6 được kích thích bởi IL-1 β từ các tế bào bạch cầu đơn nhân ở người; tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-1 β khoảng EC50 kháng thể này có IC50 là 10 nM hoặc thấp hơn, 5 nM hoặc thấp hơn, hoặc 1 nM hoặc thấp hơn. Theo một số phương án kháng thể kháng IL1RAP ức chế sự giải phóng INF- γ được kích thích bởi IL-33 từ các tế bào giết tự nhiên (NK) ở người; tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-33 khoảng EC50 kháng thể có IC50 là 10 nM hoặc thấp hơn, 5 nM hoặc thấp hơn, hoặc 1 nM hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, kháng thể này ức chế sự giải phóng IL8 được kích thích bởi IL-36 β từ tế bào sừng biểu bì ở người (HEKn); tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-36 β khoảng EC60, kháng thể này có IC50 là 10 nM hoặc thấp hơn, 5 nM hoặc thấp hơn, hoặc 2 nM hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, kháng thể này ức chế quá trình phosphoryl hóa được kích thích bởi IL-33 ở bạch cầu ái kiềm; tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-33 khoảng EC56 kháng thể này có IC50 là 75 nM hoặc thấp hơn, 50 nM hoặc thấp hơn, hoặc 45 nM hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, kháng thể này ức chế sự giải phóng INF- γ được kích thích bởi IL-33 từ các tế bào T CD4+; tùy ý, trong đó ở nồng độ IL-33 khoảng EC34 kháng thể này có IC50 là 75 nM hoặc thấp hơn, 50 nM hoặc thấp hơn, hoặc 45 nM hoặc thấp hơn.

Mảnh kháng thể

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể là mảnh kháng thể. Các mảnh kháng thể hữu ích với các yếu tố quyết định liên kết theo sáng chế này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, kháng thể đơn hóa trị, một nhánh (hoặc đơn nhánh), các mảnh scFv, và các mảnh khác được mô tả trong bản mô tả này và đã biết trong lĩnh vực này. Để xem xét về các mảnh kháng thể nhất định, xem Hudson và cộng sự Nat. Med. 9: 129-134 (2003). Để xem xét về các mảnh sFv, xem, ví dụ, Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, tập 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), trang 269-315 (1994); xem thêm WO93/16185; và Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 5,571,894 và 5,587,458. Đối với phần mô tả về các mảnh Fab và F(ab')₂ có chứa các gốc quyết định kháng nguyên liên kết thụ thể cứu vãn và có thời gian bán thải trong cơ thể tăng lên, xem Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 5,869,046. Các dạng kháng thể đơn hóa trị khác được mô tả

trong, ví dụ, WO2007/048037, WO2008/145137, WO2008/145138, và WO2007/059782. Các kháng thể đơn hóa trị, đơn nhánh được mô tả, ví dụ, trong WO2005/063816. Thể đôi là mảnh kháng thể với hai vị trí liên kết kháng nguyên mà có thể có hóa trị kép hoặc đặc hiệu kép (xem ví dụ, EP0404097; WO93/01161; Hudson và cộng sự, Nat. Med., 9: 129-134 (2003); và Lazar và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ, 90: 6444-6448 (1993)).

Theo một số phương án, mảnh kháng thể là kháng thể đơn miền có chứa tất cả hoặc một phần của miền biến đổi chuỗi nặng hoặc tất cả hoặc một phần của miền biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể. Theo một số phương án, kháng thể đơn miền là kháng thể đơn miền ở người (Domantis, Inc., Waltham, Mass.; xem, ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,248,516).

Các mảnh kháng thể có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở sự phân cắt bằng cách phân giải protein của kháng thể nguyên vẹn cũng như là sự sản xuất bằng tế bào chủ tái tổ hợp (ví dụ, E. coli hoặc phago), như được mô tả trong bản mô tả này.

Dự tính rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ theo sáng chế này có thể được điều chế ở dạng các mảnh kháng thể bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ, việc điều chế và phân tích các phiên bản Fab của các kháng thể kháng IL1RAP khác nhau theo sáng chế này được mô tả trong Ví dụ 8.

Kháng thể khảm và Được nhân hóa

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể là kháng thể là kháng thể khảm. (Xem ví dụ, các kháng thể khảm như được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 4,816,567; và Morrison và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ, 81:6851-6855 (1984)). Theo một phương án, kháng thể khảm bao gồm vùng biến đổi không phải ở người (ví dụ, vùng biến đổi có nguồn gốc từ chuột, chuột cống, chuột hamster, thỏ hoặc động vật linh trưởng không phải người, như khỉ) và vùng cố định ở người. Theo một số phương án, kháng thể khảm là kháng thể “được chuyển đổi lớp” trong đó lớp hoặc phân lớp đã được thay đổi từ lớp hoặc phân lớp của kháng thể ban đầu. Người ta dự tính rằng các kháng thể khảm có thể bao gồm các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP trong sáng chế này là kháng thể được nhân hóa. Thông thường, kháng thể không phải ở người được nhân hóa để làm giảm khả năng gây miễn dịch đối với ở người, trong khi giữ lại tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể ban đầu không phải ở người. Thường là, kháng thể được nhân hóa có chứa một hoặc nhiều miền biến đổi trong đó CDR, ví dụ, CDR, (hoặc phần của chúng) có nguồn gốc từ kháng thể không phải ở người, và FR (hoặc phần của chúng) có nguồn gốc từ trình tự kháng thể ở người. Kháng thể được nhân hóa một cách tùy ý cũng có chứa ít nhất là một phần của vùng hằng định ở người. Theo một số phương án, một số gốc FR trong kháng thể được nhân hóa được thế bằng các gốc tương ứng từ kháng thể không phải ở người (ví dụ, kháng thể mà các gốc CDR có nguồn gốc từ đó), để khôi phục hoặc cải thiện độ đặc hiệu hoặc ái lực kháng thể.

Các kháng thể được nhân hóa và các phương pháp tạo ra chúng được xem xét, ví dụ, trong Almagro và Fransson, *Front. Biosci.*, 13: 1619-1633 (2008), và được mô tả thêm, ví dụ, trong Riechmann và cộng sự, *Nature*, 332:323-327 (1988); Queen và cộng sự, *Proc. Nat'l Acad. Sci. Hoa Kỳ*, 86: 10029-10033 (1989); Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321 và 7,087,409; Kashmiri và cộng sự, *Methods*, 36:25-34 (2005) (mô tả ghép SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol. Immunol.*, 28:489-498 (1991) (mô tả “tái tạo bề mặt”); Dall'Acqua và cộng sự, *Methods*, 36:43-60 (2005) (mô tả “xáo trộn FR”); và Osbourn và cộng sự, *Methods*, 36:61-68 (2005) và Klimka và cộng sự, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (mô tả “chọn lọc có hướng dẫn” tiếp cận để xáo trộn FR).

Các vùng khung ở người hữu ích cho việc nhân hóa bao gồm nhưng không giới hạn ở: các vùng khung được chọn bằng phương pháp “phù hợp nhất” (xem, ví dụ, Sims và cộng sự, *J. Immunol.*, 151:2296 (1993)); các vùng khung có nguồn gốc từ trình tự đồng thuận của các kháng thể ở người thuộc phân nhóm cụ thể của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng (xem, ví dụ, Carter và cộng sự, *Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ* 89:4285 (1992); và Presta và cộng sự, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); các vùng khung trưởng thành (đột biến soma) ở người hoặc các vùng khung dòng mầm ở người (xem, ví dụ, Almagro và Fransson, *Front. Biosci.* 13: 1619-1633 (2008)); và các vùng khung bắt nguồn từ việc sàng lọc các thư viện FR (xem, ví dụ, Baca và cộng sự, *J. Biol. Chem.* 272: 10678- 10684 (1997) và Rosok và cộng sự, *J. Biol. Chem.*, 271:22611-22618 (1996)).

Dự tính rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ theo sáng chế này có thể được điều chế ở dạng kháng thể được nhân hóa bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ, việc điều chế và phân tích các phiên bản được nhân hóa của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được mô tả trong các ví dụ.

Kháng thể ở Người

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể là kháng thể ở người. Kháng thể ở người có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực này. Kháng thể ở người được mô tả chung trong van Dijk và van de Winkel, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 5: 368-74 (2001) và Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.*, 20:450-459 (2008). Kháng thể ở người có thể được điều chế bằng cách dùng chất gây miễn dịch cho động vật chuyển gen mà đã được cải biến để sản xuất kháng thể nguyên vẹn ở người hoặc kháng thể nguyên vẹn với vùng biến đổi ở người khi đáp ứng với thử thách kháng nguyên. Các con vật này thường chứa tất cả hoặc một phần của locut globulin miễn dịch ở người, mà thay thế locut globulin miễn dịch nội sinh, hoặc có mặt ngoài nhiễm sắc thể hoặc được tích hợp ngẫu nhiên vào nhiễm sắc thể của động vật. Ở những con chuột chuyển gen như vậy, các locut globulin miễn dịch nội sinh thường bị bất hoạt. Để xem xét về phương pháp thu được kháng thể ở người từ các con vật chuyển gen, xem Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005). Xem thêm, ví dụ, công nghệ XENOMOUSE™ trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,075,181 và 6,150,584; Công nghệ HUMAB® trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,770,429; Công nghệ KM MOUSE® trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,041,870; và công nghệ VELOCIMOUSE® trong Công bố đơn đăng ký sáng chế Mỹ Số US 2007/0061900). Vùng biến đổi ở người từ kháng thể nguyên vẹn được tạo ra bằng các con vật này có thể được cải biến thêm, ví dụ, bằng cách kết hợp với vùng hằng định khác nhau ở người.

Kháng thể ở người cũng có thể được tạo ra bằng phương pháp dựa trên tế bào lai. U tủy ở người và các dòng tế bào u tủy dị hợp giữa chuột-người để sản xuất kháng thể đơn dòng ở người đã được mô tả. Xem, ví dụ, Kozbor, *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur và cộng sự, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, trang 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); và Boerner và cộng sự, *J. Immunol.*, 147: 86(1991). Các kháng thể ở người được tạo ra thông qua công nghệ tế

bào lai tế bào B ở người cũng được mô tả trong Li và cộng sự, *Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ*, 103:3557-3562 (2006). Các phương pháp bổ sung mô tả việc sản xuất các kháng thể IgM đơn dòng ở người từ các dòng tế bào lai bao gồm các phương pháp được mô tả trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 7,189,826. Công nghệ tế bào lai ở người (ví dụ, nghĩa là kỹ thuật trioma) được mô tả trong ví dụ, Vollmer và cộng sự, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) và Volmers và cộng sự, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-91 (2005).

Kháng thể ở người cũng có thể được tạo ra bằng cách phân lập trình tự miền biến đổi dòng Fv được chọn từ các thư viện hiển thị phagơ có nguồn gốc ở người. Sau đó các trình tự miền biến đổi này có thể được kết hợp với miền hằng định mong muốn ở người. Kỹ thuật chọn lọc kháng thể ở người từ thư viện kháng thể được mô tả dưới đây.

Dự tính rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ theo sáng chế này có thể được điều chế ở dạng kháng thể ở người bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này.

Kháng thể có nguồn gốc từ thư viện

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được phân lập bằng cách sàng lọc thư viện tái tổ hợp đối với kháng thể có hoạt tính hoặc các hoạt tính mong muốn. Ví dụ, nhiều phương pháp đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để tạo ra các thư viện hiển thị phagơ và sàng lọc các thư viện như vậy để tìm các kháng thể có các đặc điểm liên kết mong muốn. Việc sử dụng phagơ thể hiện để điều chế các biến thể đã trưởng thành về ái lực của phiên bản được nhân hóa của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được mô tả trong phần Ví dụ được bộc lộ trong bản mô tả này. Các phương pháp khác để tạo ra các kháng thể có nguồn gốc từ thư viện như vậy có thể được tìm thấy trong ví dụ, Hoogenboom và cộng sự, *Methods in Molecular Biology*, 178: 1-37 (O'Brien và cộng sự, ed., *Antibody Phage Display*, Humana Press, Totowa, NJ, 2001); Chothia và cộng sự, *Nature* 348:552- 554; Clackson và cộng sự, *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks và cộng sự, *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1992); Marks và Bradbury, *Methods in Molecular Biology*, 248: 161-175 (Lo, ed., *Antibody Engineering*, Humana Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu và cộng sự, *J. Mol. Biol.*, 338(2): 299-310 (2004); Lee và cộng sự, *J. Mol. Biol.*, 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ*, 101 (34): 12467-12472 (2004); và Lee và cộng sự, *J. Immunol. Methods*, 284(1-2): 119-132(2004).

Dự tính rằng việc sàng lọc thư viện tổ hợp có thể được sử dụng để tạo ra các biến thể của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ, việc sử dụng việc tạo và sàng lọc thư viện hiển thị phagor để chuẩn bị loạt các biến thể trưởng thành có ái lực của kháng thể kháng IL1RAP được nhân hóa theo sáng chế này được mô tả trong Ví dụ 1.

Kháng thể đa đặc hiệu

Theo một số phương án, kháng thể thể kháng IL1RAP theo sáng chế này là kháng thể đa đặc hiệu, ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, kháng thể đa đặc hiệu là kháng thể đơn dòng có ít nhất hai vị trí liên kết khác nhau, mỗi vị trí có tính liên kết đặc hiệu đối với kháng nguyên khác nhau, ít nhất một trong số đó liên kết đặc hiệu với IL1RAP. Theo một số phương án, ít nhất một trong số các vị trí liên kết liên kết đặc hiệu với tác nhân gây độc tế bào. Theo các phương án được lấy làm ví dụ, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này là kháng thể đặc hiệu kép và có thể được sử dụng để định khu tác nhân gây độc tế bào cho các tế bào biểu hiện IL1RAP.

Các kỹ thuật để tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự đồng biểu hiện tái tổ hợp của hai cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch có các tính đặc hiệu khác nhau (xem ví dụ, WO2012131555).

Các kháng thể đa đặc hiệu cũng có thể được tạo ra bằng các hiệu ứng “điều khiển tĩnh điện” kỹ thuật có lợi cho sự hình thành các phân tử kháng thể dị thể Fc hơn là các homodime (WO 2009/089004A1); liên kết chéo hai hay nhiều kháng thể hoặc các mảnh (xem, ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 4,676,980, và Brennan và cộng sự, Science, 229: 81 (1985)); sử dụng khóa kéo leucin để tạo ra các kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Kostelny và cộng sự, J. Immunol, 148(5): 1547-1553 (1992)); sử dụng công nghệ “diabody” để tạo ra các mảnh kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Holliger và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ, 90:6444-6448 (1993); sử dụng dime Fv (scFv) chuỗi đơn (xem, ví dụ Gruber và cộng sự, J. Immunol, 152:5368 (1994)); hoặc kháng thể ba đặc hiệu (xem ví dụ, Tutt và cộng sự, J. Immunol., 147:60 (1991).

Dự tính rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ theo sáng chế này có thể được điều chế ở dạng kháng thể đa đặc hiệu bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này.

Biến thể kháng thể

Theo một số phương án, các biến thể của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này cũng được dự tính. Ví dụ, các kháng thể có ái lực liên kết được cải thiện và/hoặc các đặc tính sinh học khác của kháng thể có thể được điều chế bằng cách đưa các biến đổi thích hợp vào trình tự nucleotit mã hóa kháng thể, hoặc bằng cách tổng hợp peptit. Sự cải biến này bao gồm, ví dụ, sự mất đoạn và/hoặc chèn đoạn và/hoặc thế các gốc ở trong trình tự axit amin của kháng thể. Dạng kết hợp bất kỳ của sự mất đoạn, chèn đoạn và thế có thể được tạo ra để thu được cấu trúc cuối cùng, đề xuất là cấu trúc cuối cùng có tính chất mong muốn của liên kết kháng nguyên IL1RAP. Người ta dự tính rằng có thể điều chế nhiều loại biến thể của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này bằng cách sử dụng các phương pháp và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm nhưng không giới hạn ở: (i) các biến thể thế, chèn và/hoặc xóa axit amin; (ii) các biến thể glycosyl hóa; (iii) Các biến thể vùng Fc; (iv) các biến thể được thiết kế cystein; và (v) các biến thể dẫn xuất.

Các biến thể thế, chèn đoạn và mất đoạn

Theo các phương án nhất định, biến thể kháng thể kháng IL1RAP có một hoặc nhiều sự thế axit amin được mô tả trong bản mô tả này được đề xuất. Các vị trí gây đột biến có thể bao gồm các CDR và FR. Các dạng thế axit amin “bảo toàn” điển hình và/hoặc các dạng thế dựa trên các đặc tính hoặc loại chuỗi bên phổ biến là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng theo các phương án theo sáng chế này. Sáng chế này cũng dự tính các biến thể dựa trên sự thế axit amin không bảo toàn trong đó thành viên của một trong số các loại chuỗi bên axit amin được trao đổi với axit amin từ loại khác.

Chuỗi bên axit amin thường được nhóm theo các lớp hoặc thuộc tính chung sau: (1) tính kỵ nước: Met, Ala, Val, Leu, Ile, Norleucin; (2) ưa nước trung tính: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) có tính axit: Asp, Glu; (4) cơ bản: His, Lys, Arg; (5) ảnh hưởng định hướng chuỗi: Gly, Pro; và (6) thơm: Trp, Tyr, Phe.

Các kỹ thuật đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này đối với sự thế axit amin thành kháng thể và sàng lọc sau đó để đạt được chức năng mong muốn, ví dụ, liên kết kháng nguyên được giữ lại/cải thiện, giảm khả năng sinh miễn dịch, hoặc ADCC hoặc CDC được cải thiện.

Biến thể thế amino axit gồm có sự thế một hoặc nhiều gốc vùng siêu biến của kháng thể ban đầu (ví dụ, kháng thể được nhân hóa hoặc kháng thể ở người). Nhìn

chung, (các) biến thể thu được được chọn để nghiên cứu thêm sẽ có các cải biến ở các tính chất sinh học nhất định (ví dụ, ái lực tăng lên, khả năng gây miễn dịch giảm đi) so với kháng thể ban đầu và/hoặc về cơ bản giữ lại các tính chất sinh học nhất định của kháng thể ban đầu. Biến thể thể được lấy làm ví dụ là kháng thể được làm trưởng thành ái lực, mà có thể thường được tạo ra, ví dụ, bằng cách sử dụng kỹ thuật làm trưởng thành ái lực dựa trên hiển thị phagơ chẳng hạn như kỹ thuật được mô tả trong các Ví dụ trong bản mô tả này. Một cách vắn tắt, một hoặc nhiều gốc CDR được gây đột biến và kháng thể biến thể hiển thị trên phagơ và được sàng lọc về hoạt tính sinh học cụ thể (ví dụ, ái lực liên kết).

Phương pháp hữu dụng để xác định các gốc hoặc các vùng của kháng thể mà có thể được hướng đích để gây đột biến được gọi là "gây đột biến quét alanin" (xem ví dụ, Cunningham và Wells (1989) *Science*, 244: 1081-1085). Trong phương pháp này, gốc hoặc nhóm của các gốc đích (ví dụ, các gốc tích điện chẳng hạn như Arg, Asp, His, Lys, và Glu) được xác định và được thay thế bằng axit amin trung tính hoặc tích điện âm (ví dụ, alanin hoặc polyalanin) để xác định liệu sự tương tác của kháng thể với kháng nguyên có bị ảnh hưởng hay không. Sự thay thế khác có thể được đưa vào ở các vị trí axit amin chứng tỏ sự nhạy chức năng với sự thay thế ban đầu. Ngoài ra, hoặc thêm vào đó, có thể xác định cấu trúc tinh thể của phức hợp kháng nguyên-kháng thể để xác định các điểm tiếp xúc giữa kháng thể và kháng nguyên. Các gốc tiếp xúc như vậy và các gốc lân cận có thể được hướng đích hoặc loại bỏ như các ứng viên để thay thế. Biến thể có thể được sàng lọc để xác định liệu chúng có tính chất mong muốn hay không.

Sự chèn trình tự axit amin bao gồm sự dung hợp đầu amino và/hoặc carboxyl có chiều dài nằm trong khoảng từ một gốc đến polypeptit có chứa hàng trăm gốc hoặc nhiều hơn, cũng như là sự chèn trong trình tự của gốc axit amin đơn lẻ hoặc nhiều gốc axit amin. Ví dụ về sự chèn đầu bao gồm kháng thể có gốc methionyl ở đầu N. Các biến thể chèn đoạn khác của phân tử kháng thể bao gồm sự dung hợp vào đầu N hoặc C của kháng thể vào enzym hoặc polypeptit mà làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của kháng thể.

Sự thay thế có thể được thực hiện trong CDR để cải thiện ái lực của kháng thể. Những thay đổi như vậy có thể được thực hiện trong "điểm nóng", tức là, các gốc được mã hóa bởi đơn vị mã hóa trải qua đột biến ở tần suất cao trong quá trình trưởng thành soma (xem, ví dụ, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196 (2008)) với kết quả là biến

thể VH hoặc VL đang được thử nghiệm về ái lực liên kết. Theo một phương án, sự trưởng thành về ái lực có thể được thực hiện bằng cách xây dựng và chọn lại từ các thư viện thứ cấp (xem ví dụ, trong Hoogenboom và cộng sự, *Methods in Molecular Biology*, 178: 1-37 (O'Brien và cộng sự, ed., *Antibody Phage Display*, Humana Press, Totowa, NJ, (2001).) Phương pháp khác để đưa vào sự đa dạng gồm có phương pháp được định hướng bằng CDR, trong đó một vài gốc CDR (ví dụ, 4-6 gốc một lần) được ngẫu nhiên hóa. Các gốc CDR tham gia vào sự liên kết kháng nguyên có thể được xác định cụ thể, ví dụ, bằng cách sử dụng sự gây đột biến quét alanin hoặc sự tạo mô hình. CDR-H3 và CDR-L3 cụ thể là thường được hướng đích.

Theo một số phương án, sự thế, chèn, hoặc mất có thể xảy ra ở trong một hoặc nhiều CDR miễn là sự thay đổi này về cơ bản không làm giảm khả năng của kháng thể để liên kết kháng nguyên. Ví dụ, sự thay đổi bảo toàn (ví dụ, sự thế bảo toàn như đề xuất trong bản mô tả này) mà về cơ bản không làm giảm ái lực liên kết có thể được tạo ra trong CDR. Những thay đổi như vậy có thể nằm ngoài “điểm nóng” CDR. Theo một số phương án về trình tự VH và VE biến thể đề xuất ở trên, mỗi CDR không được thay đổi, hoặc chứa không nhiều hơn một, hai hoặc ba sự thế axit amin.

Biến thể glycosyl hóa

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được thay đổi để tăng hoặc giảm mức độ mà kháng thể này được glycosyl hóa. Việc thêm hoặc xóa các vị trí glycosyl hóa vào kháng thể có thể được thực hiện bằng cách thay đổi trình tự axit amin sao cho một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa được tạo ra hoặc loại bỏ.

Theo các phương án mà kháng thể bao gồm vùng Fc, cacbohydrat gắn vào vùng Fc có thể được biến đổi. Thông thường, các kháng thể tự nhiên được tạo ra bởi các tế bào động vật có vú bao gồm oligosacarit hai râu, phân nhánh được gắn bởi liên kết N với Asn297 của miền CH2 của vùng Fc (xem, ví dụ, Wright và cộng sự, *TIBTECH*, 15:26-32 (1997)). Oligosacarit có thể bao gồm nhiều loại cacbohydrat khác nhau, chẳng hạn như mannozơ, N-acetyl glucosamin (GlcNAc), galactozơ và axit sialic, cũng như, fucozơ gắn với GlcNAc trong “thân” của cấu trúc oligosacarit hai nhánh. Theo một số phương án, các biến đổi oligosacarit của vùng Fc của kháng thể có thể tạo ra biến thể với các đặc tính được cải thiện nhất định.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể là biến thể của kháng thể ban đầu, trong đó biến thể này bao gồm cấu trúc cacbohydrat

không có fucose được gắn (trực tiếp hoặc gián tiếp) vào vùng Fc. Ví dụ, lượng fucose trong kháng thể như vậy có thể nằm trong khoảng từ 1% đến 80%, từ khoảng 1% đến 65%, từ khoảng 5% đến 65% hoặc từ khoảng 20% đến 40%. Lượng fucose có thể được xác định bằng cách tính toán lượng fucose trung bình trong chuỗi đường ở Asn297, so với tổng của tất cả các cấu trúc glyco được gắn vào Asn 297 (ví dụ, cấu trúc phức tạp, lai và nhiều mannos) được đo bằng MALDI- khối phổ TOF (xem ví dụ, WO 2008/077546). Asn297 đề cập đến gốc asparagin ở khoảng vị trí 297 trong vùng Fc (đánh số Eu của các gốc vùng Fc); tuy nhiên, Asn297 cũng có thể nằm ở khoảng ± 3 axit amin ngược dòng hoặc xuôi dòng của vị trí 297, tức là giữa vị trí 294 và 300, do các biến thể trình tự nhỏ trong kháng thể.

Theo một số phương án, các biến thể fucosyl hóa có thể cải thiện chức năng ADCC. Xem, ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Công bố Số US 2003/0157108, hoặc US 2004/0093621. Các ví dụ về kháng thể “khử fucosyl hóa” hoặc “thiếu fucose” và các phương pháp liên quan để điều chế chúng được bộc lộ trong ví dụ, US2003/0157108; US2003/0115614; US2002/0164328; US2004/0093621; US2004/0132140; US2004/0110704; US2004/0110282; US2004/0109865; WO2000/61739; WO2001/29246; WO2003/085119; WO2003/084570; WO2005/035586; WO2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki và cộng sự, J. Mol. Biol., 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki và cộng sự, Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004).

Các dòng tế bào hữu ích để sản xuất các kháng thể khử fucosyl hóa bao gồm các tế bào Led 3 CHO thiếu hụt protein fucosyl hóa (xem ví dụ, Ripka và cộng sự, Arch. Biochem. Biophys, 249:533-545 (1986); US2003/0157108, và WO2004/056312), và các dòng tế bào loại bỏ, chẳng hạn như gen alpha-1,6-fucosyltransferaza, FUT8, các tế bào CHO loại bỏ (xem, ví dụ, Yamane-Ohnuki và cộng sự, Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004) Kanda, Y. và cộng sự, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); và WO2003/085107).

Biến thể vùng Fc

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể bao gồm một hoặc nhiều biến đổi axit amin trong vùng Fc (ví dụ, biến thể vùng Fc). Biến thể vùng Fc có thể bao gồm trình tự vùng Fc ở người (ví dụ, vùng Fc IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4 ở người) bao gồm sự thay thế axit amin ở một hoặc nhiều vị trí gốc axit amin. Một

loạt các biến thể vùng Fc đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là hữu ích với các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được mô tả dưới đây.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP là biến thể vùng Fc có chức năng phản ứng với kích thích đã thay đổi. Theo một số phương án, kháng thể có chức năng phản ứng với kích thích bị thay đổi sở hữu một số (nhưng không phải tất cả) chức năng phản ứng với kích thích, chức năng phản ứng với kích thích giảm, hoặc không có chức năng phản ứng với kích thích nào (ví dụ, không có phản ứng với kích thích) của kháng thể ban đầu. Các biến thể vùng Fc không có phản ứng với kích thích được mong muốn hơn đối với một số ứng dụng nhất định trong đó chức năng phản ứng với kích thích (chẳng hạn như ADCC) là không cần thiết hoặc có hại, và/hoặc thời gian bán hủy trong cơ thể của kháng thể là quan trọng.

Các kháng thể biến đổi vùng Fc có chức năng phản ứng với kích thích giảm, hoặc không có phản ứng với kích thích, có thể bao gồm sự thay thế axit amin ở một hoặc nhiều vị trí trong số các vị trí vùng Fc sau: 238, 265, 269, 270, 297, 327, và 329. (xem, ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,737,056). Các biến thể vùng Fc như vậy có thể bao gồm các sự thay thế axit amin ở hai hoặc nhiều hơn trong số các vị trí 265, 269, 270, 297 và 327. Các biến thể vùng Fc như vậy cũng có thể bao gồm các dạng thể của cả hai gốc 265 và 297 thành alanin (xem ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,332,581). Như được bộc lộ trong các ví dụ và các nơi khác trong bản mô tả này, theo một số phương án, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này là các biến thể vùng Fc không có phản ứng với kích thích. Theo một số phương án, các biến thể vùng Fc không có phản ứng với kích thích của kháng thể kháng IL1RAP bao gồm sự thay thế axit amin N297G.

Các biến thể vùng Fc có sự liên kết được cải thiện hoặc giảm bớt với các FcR được bộc lộ trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,737,056; WO 2004/056312; và Shields và cộng sự, J. Biol. Chem., 276(9): 6591:-6604 (2001). Biến thể vùng Fc có ADCC được cải thiện có thể bao gồm một hoặc nhiều sự thay thế axit amin ở ví dụ, vị trí 298, 333, và/hoặc 334 của vùng Fc (dựa trên cách đánh số EU). Các biến thể của vùng Fc đã thay đổi (nghĩa là được cải thiện hoặc giảm đi) khả năng liên kết Clq và/hoặc Độ tính tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), như được mô tả trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,194,551, WO99/51642, và Idusogie và cộng sự, J. Immunol., 164: 4178:-4184 (2000). Các biến thể vùng Fc có thời gian bán hủy tăng lên và khả năng liên kết được cải thiện với thụ thể Fc sơ sinh (FcRn) được bộc lộ trong ví dụ,

US2005/0014934A1 (Hinton và cộng sự.). Các biến thể vùng Fc như vậy bao gồm các sự thể axit amin ở một hoặc nhiều vị trí: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, và 434. Các biến thể vùng Fc khác có thời gian bán hủy tăng lên bao gồm tập hợp các đột biếnYTE ở các vị trí 252, 254 và 256 (tức là, M252Y/S254T/T256E) được mô tả trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 7,658,921 B2 (Dall'Acqua và cộng sự). Như được bộc lộ trong các ví dụ và các nơi khác trong bản mô tả này, theo một số phương án, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này là các biến thể vùng Fc bao gồm tập hợp các đột biếnYTE. Các ví dụ khác về biến thể vùng Fc có thể được tìm thấy trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 5,648,260 và 5,624,821; và WO94/29351.

Như đã lưu ý ở những nơi khác trong bản mô tả này, vùng Fc của kháng thể xuất hiện tự nhiên thường bao gồm lysin ở đầu C ở vị trí 447 (Lys447). Tuy nhiên, lysin ở đầu C này thường bị tách ra khỏi vùng Fc trong quá trình sản xuất kháng thể tái tổ hợp trong dịch nuôi cấy tế bào do sự phân cắt bằng enzyme (ví dụ, sản xuất trong tế bào CHO). Theo đó, dự định rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này là bao gồm vùng Fc với lysin ở đầu C, cũng bao gồm kháng thể kháng IL1RAP giống hệt bao gồm vùng Fc ngoại trừ không có lysin ở đầu C. Tương tự, dự định rằng kháng thể kháng IL1RAP bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này là bao gồm vùng Fc không có lysin ở đầu C, cũng bao gồm kháng thể kháng IL1RAP giống hệt bao gồm vùng Fc ngoại trừ có lysin ở đầu C.

Nói chung, có thể tiến hành các xét nghiệm về khả năng gây độc tế bào trong phòng thí nghiệm và/hoặc trong cơ thể để xác nhận việc giảm/làm cạn kiệt các hoạt động của CDC và/hoặc ADCC trong biến thể vùng Fc. Ví dụ, xét nghiệm liên kết với thụ thể Fc (FcR) có thể được tiến hành để đảm bảo rằng kháng thể không có khả năng liên kết với FcγR (do đó có khả năng thiếu hoạt tính ADCC) nhưng vẫn giữ được khả năng liên kết với FcRn. Các tế bào chính để làm trung gian ADCC, các tế bào NK chỉ biểu hiện FcγRIII, trong khi các tế bào bạch cầu đơn nhân biểu hiện FcγRI, FcγRII và FcγRIII. Các ví dụ không giới hạn về xét nghiệm trong phòng thí nghiệm để đánh giá hoạt động ADCC của phân tử quan tâm được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 5,500,362 (xem, ví dụ Hellstrom, và cộng sự, Proc. Nat'l Acad. Sci. Hoa Kỳ, 83:7059-7063 (1986)) và Hellstrom, và cộng sự, Proc. Nat'l Acad. Sci. Hoa Kỳ, 82: 1499-1502 (1985); Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 5,821,337 (xem Bruggemann, M. và cộng sự,

J. Exp. Med., 166:1351-1361 (1987)). Ngoài ra, có thể sử dụng các phương pháp xét nghiệm không phóng xạ (xem, ví dụ, xét nghiệm độc tính tế bào không phóng xạ ACTI™ cho phép đếm tế bào theo dòng chảy (CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.; và xét nghiệm độc tính tế bào không phóng xạ CytoTox96® (Promega, Madison, Wis.)). Các tế bào phản ứng với kích thích hữu ích cho các xét nghiệm như vậy bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) và tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK). Ngoài ra, hoặc thêm vào đó, hoạt tính ADCC của phân tử quan tâm có thể được đánh giá trong cơ thể, ví dụ, trong mô hình động vật như mô hình được bộc lộ trong Clynes và cộng sự, Proc. Nat'l Acad. Sci. Hoa Kỳ, 95:652-656 (1998). Xét nghiệm liên kết Clq cũng có thể được thực hiện để xác nhận rằng kháng thể không thể liên kết Clq và do đó thiếu hoạt động CDC. Xem, ví dụ, ELISA liên kết Clq và C3c trong WO2006/029879 và WO2005/100402. Để đánh giá hoạt hóa bổ thể, có thể thực hiện xét nghiệm CDC (xem, ví dụ, Gazzano-Santoro và cộng sự, J. Immunol. Methods, 202: 163 (1997), Cragg, MS và cộng sự, Blood 101, 1045-1052 (2003); và Cragg, MS và MJ Glennie, Blood, 103:2738-2743 (2004)). Việc xác định độ thanh thải/thời gian bán thải trong cơ thể và liên kết FcRn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem, ví dụ, Petkova, và cộng sự, Int. Immunol., 18(12): 1759-1769 (2006)).

Các biến thể được thiết kế cystein

Theo một số phương án, dự tính rằng kháng thể kháng IL1RAP được mô tả trong bản mô tả này có thể được thay thế ở các vị trí không phải CDR cụ thể bằng các gốc cystein để tạo ra các nhóm thiol phản ứng. Có thể sử dụng “thioMAbs” được thiết kế như vậy để liên hợp kháng thể với ví dụ, gốc dược chất hoặc gốc thuốc liên kết và do đó tạo ra liên hợp miễn dịch, như được mô tả ở nơi khác trong bản mô tả này. Các kháng thể được thiết kế cystein có thể được tạo ra như được mô tả trong ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 7,521,541. Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc kháng thể bất kỳ sau đây có thể được thế bằng cystein: V205 (đánh số Kabat) của chuỗi nhẹ; A118 (đánh số EU) của chuỗi nặng; và S400 (đánh số EU) của vùng Fc chuỗi nặng.

Biến thể Dẫn xuất

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được biến đổi thêm (tức là, được tạo dẫn xuất) với các gốc phi protein. Các gốc phi protein thích hợp để tạo dẫn xuất của kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, polyme hòa

tan trong nước, chẳng hạn như: polyetylen glycol (PEG), chất đồng trùng hợp của etylen glycol và propylen glycol, carboxy-metylcellulozo, dextran, rượu polyvinyl, polyvinyl pyrrolidon, poly-1, 3-dioxolan, poly-1, 3, 6-trioxan, chất đồng trùng hợp etylen/maleic anhydrit, polyme đồng trùng hợp poly-amino axit hoặc đồng trùng hợp ngẫu nhiên, và dextran hoặc poly(n-vinyl pyrrolidon)polyetylen glycol, polyme đồng đẳng propylen glycol, đồng polyme polypropylen oxit/etylen oxit, polyol polyoxy-etyl hóa (ví dụ, glyxerol), rượu polyvinyl, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, việc biến đổi kháng thể có thể được thực hiện bằng cách sử dụng methoxy-polyetylen glycol propionaldehyt. Các polyme có thể có trọng lượng phân tử bất kỳ và có thể phân nhánh hoặc không phân nhánh. Số lượng polyme được gắn vào kháng thể có thể khác nhau và nếu có nhiều polyme được gắn vào thì chúng có thể là các phân tử giống nhau hoặc khác nhau. Nói chung, số lượng và/hoặc loại polyme được sử dụng để tạo dẫn xuất có thể được xác định dựa trên các cân nhắc bao gồm, nhưng không giới hạn ở các đặc tính hoặc chức năng cụ thể của kháng thể, ví dụ, liệu dẫn xuất kháng thể có được sử dụng trong điều trị theo điều kiện xác định.

Liên hợp miễn dịch

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này cũng có thể là liên hợp miễn dịch, trong đó liên hợp miễn dịch bao gồm kháng thể kháng IL1RAP được liên hợp với một hoặc nhiều chất gây độc tế bào. Các tác nhân gây độc tế bào thích hợp được dự tính theo sáng chế này bao gồm các tác nhân hóa trị liệu, thuốc, chất ức chế tăng trưởng, độc tố (ví dụ, độc tố protein, độc tố có hoạt tính enzym có nguồn gốc vi khuẩn, nấm, thực vật hoặc động vật, hoặc các mảnh của chúng), hoặc đồng vị phóng xạ.

Theo một số phương án, liên hợp miễn dịch là liên hợp thuốc-kháng thể (ADC) trong đó kháng thể kháng IL1RAP, như được mô tả trong bản mô tả này, được liên hợp với một hoặc nhiều thuốc.

Theo một số phương án, liên hợp miễn dịch theo sáng chế này bao gồm kháng thể kháng IL1RAP như được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với thuốc hoặc tác nhân trị liệu để điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL-1, IL-33, IL-36, và/hoặc IL1RAP.

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP như được mô tả trong bản mô tả này có thể được liên hợp với độc tố có hoạt tính enzym hoặc mảnh của nó, bao gồm

nhưng không giới hạn ở chuỗi A của bạch hầu, các mảnh hoạt động không liên kết của độc tố bạch hầu, ngoại độc tố chuỗi A (từ *Pseudomonas aeruginosa*), chuỗi ricin A, chuỗi abrin A, chuỗi modeccin A, alpha-sarcin, protein *Aleurites fordii*, protein dianthin, protein *Phytolacca Americana*, chất ức chế *Momordica charantia*, curcin, crotin, chất ức chế *Saponaaria officinalis*, gelonin, mitogellin, strictocin, phenomycin, enomycin, và tricothecenes.

Theo một số phương án, liên hợp miễn dịch theo sáng chế này bao gồm kháng thể kháng IL1RAP như được mô tả trong bản mô tả này được liên hợp với đồng vị phóng xạ (tức là, liên hợp phóng xạ). Có sẵn nhiều loại đồng vị phóng xạ để sản xuất các liên hợp phóng xạ như vậy. Ví dụ như 211At, 131I, 125I, 90Y, 186Re, 188Re, 153Sm, 212Bi, 32P, 212Pb, và các đồng vị phóng xạ của Lu. Theo một số phương án, liên hợp miễn dịch có thể bao gồm đồng vị phóng xạ để phát hiện bằng ảnh chụp nhấp nháy, hoặc nhãn quay để phát hiện bằng NMR hoặc MRI. Các đồng vị phóng xạ hoặc nhãn quay thích hợp có thể bao gồm, như 123I, 131I, 11In, 130, 19F, 15N, 17O, các đồng vị khác nhau của Gd, Mn và Fe.

Liên hợp miễn dịch của kháng thể kháng IL1RAP và tác nhân gây độc tế bào, có thể được tạo ra bằng cách sử dụng nhiều loại thuốc thử và hóa chất nhị chức nổi tiếng phù hợp để liên hợp với protein. Như bao gồm nhưng không giới hạn ở: N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio) propionat (SPDP), succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), iminothiolan (IT), các dẫn xuất nhị chức của imidoeste (ví dụ, dimethyl adipimidat HQ), este hoạt tính (ví dụ, disuccinimidyl suberat), aldehyt (ví dụ, glutaraldehyt), hợp chất bis-azido (ví dụ, bis-(p-azidobenzoyl)-hexanediamin), dẫn xuất bis-diazonium (ví dụ, bis-(p-diazoniumbenzoyl)-ethylenediamin), diisoxyanat (ví dụ, toluen-2,6-diisocyanat) và các hợp chất flo hoạt tính bis (ví dụ, 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen).

Thuốc thử để điều chế liên hợp miễn dịch theo sáng chế này cũng có thể bao gồm thuốc thử “liên kết ngang” có bán trên thị trường như: BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, và sulfo-SMPB, và SVSB (succinimidyl-(4-vinylsulfon)benzoat) (xem ví dụ, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, Ill., Mỹ).

Kháng thể tổng hợp

Theo một số phương án, kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể là kháng thể tổng hợp chứa tập hợp các CDR từ globulin miễn dịch kháng IL1RAP (ví dụ, CDR-L1, v.v..) được ghép vào khung hoặc khung không phải là khung globulin miễn dịch hoặc khung, chẳng hạn như khung protein thay thế, hoặc khung polyme nhân tạo.

Khung protein thay thế được lấy làm ví dụ được dự tính để điều chế các kháng thể tổng hợp theo sáng chế này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở: fibronectin, neocarzinostatin CBM4-2, lipocalin, thụ thể tế bào T, miền protein-A (protein Z), Im9, protein TPR, miền ngón tay kẽm, pVIII, polypeptit tuyến tụy gia cầm, GCN4, miền WW tương đồng Src miền 3, miền PDZ, TEM-1 beta-lactamaza, thioredoxin, nucleaza staphylococcal, miền PHD-finger, CL-2, BPTI, APPI, HPSTI, ecotin, LACI-D1, EDTI, MTI-II, độc tố bộ cặp, peptit defensin-A của côn trùng, EETI-II, Min-23, CBD, PBP, cytochrom b-562, miền thụ thể Edi, gama-crystallin, ubiquitin, transferrin, và/hoặc các miền giống như lectin loại C.

Các khung polyme nhân tạo (phi protein) được lấy làm ví dụ hữu ích cho các kháng thể tổng hợp được mô tả trong ví dụ, Fiedler và cộng sự, (2014) "Non-Antibody Scaffolds as Alternative Therapeutic Agents," in Handbook of Therapeutic Antibodies (eds. S. DObel và JM Reichert), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.; Gebauer và cộng sự, Curr. Opin. Chem. Biol., 13:245-255 (2009); Binz và cộng sự, Nat. Biotech., 23(10): 1257-1268 (2005).

Phương pháp và chế phẩm tái tổ hợp

Kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp và vật liệu tái tổ hợp đã biết rõ trong lĩnh vực sản xuất kháng thể. Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể kháng IL1RAP. Axit nucleic có thể mã hóa trình tự axit amin bao gồm VL và/hoặc trình tự axit amin bao gồm VH của kháng thể (ví dụ, chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể). Theo một số phương án, một hoặc nhiều vector (ví dụ, vector biểu hiện) bao gồm các trình tự axit nucleic mã hóa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được đề xuất. Theo một số phương án, tế bào chủ bao gồm các trình tự axit nucleic mã hóa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này được cung cấp. Theo một phương án, tế bào chủ đã được biến nạp với vector chứa axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bao gồm VL của kháng thể và trình tự axit amin bao gồm VH của kháng thể. Theo một phương án khác, tế bào chủ đã được biến nạp với vector thứ nhất chứa axit nucleic mã

hóa trình tự axit amin bao gồm VL của kháng thể và vectơ thứ hai chứa axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bao gồm VH của kháng thể.

Theo một số phương án của phương pháp tái tổ hợp, tế bào chủ được sử dụng là tế bào nhân chuẩn, chẳng hạn như tế bào Buồng trứng Hamster Trung Quốc (CHO) hoặc tế bào bạch huyết (ví dụ, YO, NSO, Sp20). Theo một phương án, phương pháp tạo ra kháng thể kháng IL1RAP được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể, như đề xuất ở trên, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể, và tùy ý thu hồi kháng thể từ tế bào chủ (hoặc môi trường dịch nuôi cấy tế bào chủ).

Tóm lại, quá trình sản xuất kháng thể kháng IL1RAP tái tổ hợp được thực hiện bằng cách phân lập axit nucleic mã hóa kháng thể (ví dụ, như được mô tả trong bản mô tả này) và đưa axit nucleic này vào một hoặc nhiều vật truyền để tạo dòng tiếp theo và/hoặc biểu hiện trong tế bào chủ. Các axit nucleic như vậy dễ dàng được phân lập và giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, bằng cách sử dụng các mẫu dò oligonucleotit có khả năng liên kết đặc hiệu với các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể mong muốn). Tế bào chủ thích hợp và phương pháp nuôi cấy để tạo dòng hoặc biểu hiện vectơ mã hóa kháng thể là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân chuẩn. Thông thường, sau khi biểu hiện, kháng thể có thể được phân lập từ bột nhào tế bào ở dạng hòa tan và được tinh chế thêm. Ngoài sinh vật nhân sơ, các vi khuẩn sinh vật nhân chuẩn như nấm sợi hoặc nấm men là vật chủ biểu hiện hoặc nhân dòng thích hợp cho các vectơ mã hóa kháng thể, bao gồm các chủng nấm và nấm men mà con đường glycosyl hóa của chúng đã “được nhân hóa”, dẫn đến việc sản xuất kháng thể có một phần hoặc mô hình glycosyl hóa hoàn toàn ở người (xem ví dụ. Gerngross, Nat. Biotech., 22: 1409-1414 (2004), và Li và cộng sự, Nat. Biotech., 24:210-215 (2006)).

Các tế bào chủ thích hợp để biểu hiện kháng thể kháng IL1RAP được glycosyl hóa theo sáng chế này cũng có thể được tạo ra từ các sinh vật đa bào (động vật không xương sống và động vật có xương sống). Ví dụ về tế bào động vật không xương sống bao gồm tế bào thực vật và côn trùng. Nhiều chủng baculovirus đã được xác định có thể được sử dụng kết hợp với các tế bào côn trùng, đặc biệt là để chuyển nạp các tế bào *Spodoptera frugiperda*. Dịch nuôi cấy tế bào thực vật cũng có thể được sử dụng làm vật

chủ (xem, ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, và 7,125,978).

Ví dụ về các dòng tế bào chủ của động vật có vú hữu ích để sản xuất kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này bao gồm tế bào buồng trứng hamster Trung Quốc (CHO), bao gồm tế bào DHFR-CHO (xem ví dụ, Urlaub và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. Hoa Kỳ, 77:4216 (1980)); các dòng tế bào u tủy như YO, NSO và Sp2/0; dòng CVI thận ở khi biến đổi bởi SV40 (COS-7); dòng thận phôi ở người (293 hoặc 293 tế bào như được mô tả, ví dụ, trong Graham và cộng sự, J. Gen Virol., 36:59 (1977)); tế bào thận ở hamster con (BHK); các tế bào Sertoli ở chuột (các tế bào TM4 như được mô tả, ví dụ, trong Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980)); tế bào thận ở khi (CVI); Tế bào thận ở khi xanh châu Phi (VERO-76); tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung ở người (HELA); tế bào thận ở chó (MDCK; tế bào gan ở chuột trâu (BRL 3A); tế bào phổi ở người (W138); tế bào gan ở người (Hep G2); khối u vú ở chuột (MMT 060562); Các tế bào TRI (xem ví dụ, trong Mather và cộng sự, Annals N Y. Acad. Sci., 383:44-68 (1982)); Tế bào MRC 5; Tế bào FS4. Để có đánh giá chung về các dòng tế bào chủ hữu ích của động vật có vú thích hợp cho việc sản xuất kháng thể, xem, ví dụ, Yazaki và Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Antibody Engineering, Humana Press, Totowa, NJ), trang 255-268 (2003).

Chế phẩm và công thức dược của kháng thể kháng IL1RAP

Sáng chế này cũng đề xuất chế phẩm dược và công thức dược chứa kháng thể kháng IL1RAP. Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất công thức dược bao gồm kháng thể kháng IL1RAP được mô tả trong bản mô tả này hợp chất theo sáng chế này và chất mang dược dụng. Các công thức dược như vậy có thể được bào chế bằng cách trộn kháng thể kháng IL1RAP, có độ tinh khiết mong muốn, với một hoặc nhiều chất mang dược dụng. Thông thường, các công thức kháng thể như vậy có thể được bào chế dưới dạng dung dịch nước (xem ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,171,586 và WO2006/044908) hoặc dưới dạng công thức đông khô (xem ví dụ, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Số 6,267,958).

Cũng được dự tính rằng các chế phẩm và công thức chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này có thể còn chứa các thành phần hoạt tính khác (tức là, tác nhân trị liệu) ngoài kháng thể IL1RAP, hữu ích cho chỉ định cụ thể đang được điều trị ở đối tượng mà công thức dược sử dụng. Tốt hơn là, tác nhân trị liệu

bổ sung bất kỳ có hoạt tính bổ sung cho hoạt tính của kháng thể kháng IL1RAP và các hoạt tính này không ảnh hưởng bất lợi lẫn nhau. Theo đó, theo một số phương án, sáng chế này đề xuất chế phẩm được chứa kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này, và chất mang được dụng, và hơn nữa còn chứa tác nhân trị liệu hữu ích để điều trị tình trạng hoặc bệnh được điều hòa bởi IL-1, IL-33, IL-36 và/hoặc IL1RAP. Theo một số phương án, ví dụ trong đó dấu hiệu bệnh là bệnh ung thư, tác nhân trị liệu là tác nhân hóa trị liệu thích hợp cho bệnh ung thư cụ thể. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu khác trong chế phẩm là chất đối vận của con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, IL-36.

Các chất mang được dụng thường không độc đối với thể nhận ở liều lượng và nồng độ được sử dụng. Nhiều loại chất mang được dụng như vậy đã được biết rõ trong lĩnh vực này (ví dụ, xem Remington's Pharmaceutical Sciences tái bản thứ 16, Osol, A. Ed. (1980)). Các chất mang được dụng được lấy làm ví dụ hữu ích trong các công thức theo sáng chế này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở: các chất đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và methionin; chất bảo quản (chẳng hạn như octadecyldimethylbenzyl amoni clorua; hexamethonium clorua; benzalkoni clorua; benzethonium clorua; phenol, butyl hoặc rượu benzyl; alkyl paraben như methyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; xiclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); protein, chẳng hạn như albumin huyết thanh, gelatin hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon; axit amin như glycin, glutamin, asparagin, histidin, arginin hoặc lysin; monosacarit, disacarit và các loại carbohydrat khác bao gồm glucozo, mannozo hoặc dextrin; các chất tạo phức như EDTA; các loại đường như sucrozo, mannitol, trehalozo hoặc sorbitol; các ion phản ứng tạo muối như natri; phức hợp kim loại (ví dụ, phức hợp Zn-protein); và/hoặc chất hoạt động bề mặt không ion như polyetylen glycol (PEG).

Chất mang được dụng hữu ích trong các công thức theo sáng chế này cũng có thể bao gồm các chất phân tán thuốc ở kẽ, như glycoprotein hyaluronidaza hoạt tính trung tính hòa tan (sHASEGP) (ví dụ, xem Bằng độc quyền sáng chế Mỹ Công bố Số 2005/0260186 và 2006/0104968), chẳng hạn như glycoprotein hyaluronidaza PH-20 hòa tan ở người (ví dụ, rHuPH20 hoặc HYLENEX®, Baxter International, Inc.).

Bổ sung tác nhân trị liệu kháng thể cũng có thể được bẫy trong vi nang được điều chế, ví dụ, bằng kỹ thuật tạo giọt hoặc bằng cách trùng hợp mặt phân cách, ví dụ, hydroxymethylxenuloza hoặc vi nang gelatin và vi nang poly-(metylmethacrylat), tương ứng, ở hệ phân phối thuốc keo (ví dụ, liposom, vi cầu albumin, vi nhũ, nano-particles và nang nano), hoặc ở hạt nhũ macro. Các kỹ thuật này đã được bộc lộ trong Remington's Pharmaceutical Sciences tái bản lần thứ 16, Oslo, A., Ed. (1980).

Theo một số phương án, công thức này có thể là chế phẩm giải phóng kéo dài kháng thể và/hoặc các hoạt chất khác. Các ví dụ thích hợp về các chế phẩm giải phóng kéo dài bao gồm các chất nền bán thấm của polyme kỵ nước rắn chứa kháng thể, các chất nền này ở dạng vật phẩm được định hình, ví dụ màng, hoặc viên nang siêu nhỏ.

Thông thường, các công thức theo sáng chế này sẽ được sử dụng cho đối tượng là vô trùng. Các công thức vô trùng có thể được chuẩn bị dễ dàng bằng cách sử dụng các kỹ thuật nổi tiếng, ví dụ, bằng cách lọc qua màng lọc vô trùng.

Việc sử dụng và phương pháp điều trị

Dự tính rằng chế phẩm hoặc công thức bất kỳ chứa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được sử dụng cho phương pháp hoặc mục đích sử dụng bất kỳ, như trong các phương pháp trị liệu, mà sử dụng khả năng của chúng để liên kết đặc hiệu với IL1RAP và/hoặc ngăn chặn hoạt động của IL1RAP, đặc biệt ngăn chặn khả năng IL1RAP làm trung gian truyền tín hiệu nội bào bởi các cytokin họ IL-1, IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và/hoặc IL-36 γ . Các con đường truyền tín hiệu nội bào được điều hòa bởi IL1RAP bao gồm các con đường IL-1, IL-33 và IL-36, và cụ thể hơn, bao gồm ít nhất các con đường truyền tín hiệu được kích thích bởi các chất chủ vận cytokin IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ . Có thể xét nghiệm trong phòng thí nghiệm việc ức chế các con đường truyền tín hiệu được điều hòa bởi IL1RAP bằng cách sử dụng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào đã biết bao gồm xét nghiệm tế bào báo cáo và xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào sơ cấp được mô tả trong phần Ví dụ của sáng chế này.

Bệnh được điều hòa bởi IL1RAP có thể bao gồm bệnh hoặc tình trạng bất kỳ có liên quan đến nồng độ cao trong dịch cơ thể hoặc mô của họ cytokin IL-1 mà IL1RAP đóng vai trò là đồng thụ thể trong việc truyền tín hiệu trung gian: IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và/hoặc IL-36 γ . Các mức IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ tăng cao có thể bao gồm, ví dụ, các mức vượt quá mức thường thấy trong tế bào

hoặc mô cụ thể, hoặc có thể là mức độ bất kỳ có thể phát hiện được trong một tế bào hoặc mô mà thông thường không biểu hiện các cytokin này.

Thông thường, các tình trạng hoặc bệnh được điều hòa bởi IL RAP biểu hiện các đặc điểm sau: (1) các bệnh lý liên quan đến tình trạng hoặc bệnh có thể được cảm ứng trên thực nghiệm ở động vật bằng cách sử dụng IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ , và/hoặc bởi điều chỉnh tăng biểu hiện của IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ ; và (2) các bệnh lý liên quan đến tình trạng hoặc bệnh phát sinh trong các mô hình động vật thí nghiệm có thể bị ức chế bởi các tác nhân được biết là ức chế hoạt động của IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/ hoặc IL-36 γ .

IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ được biết đến là các cytokin tiền viêm, tuy nhiên, chức năng bất thường của IL-1, IL-33, và/hoặc các con đường truyền tín hiệu IL-36 được kích thích bởi các cytokin này được điều hòa bởi IL RAP với tư cách là đồng thụ thể, được biết là có liên quan đến nhiều loại bệnh và tình trạng thường bao gồm nhưng không giới hạn ở các bệnh viêm nhiễm, bệnh tự miễn dịch, bệnh đường hô hấp, rối loạn chuyển hóa, nhiễm trùng và ung thư.

Ví dụ, một loạt các tình trạng và bệnh liên quan đến chức năng bất thường của sự truyền tín hiệu IL-33, và do đó, cũng được điều hòa bởi hoạt động của đồng thụ thể IL1RAP bao gồm nhưng không giới hạn ở: rối loạn được điều hòa bởi có thể là tình trạng viêm nhiễm (ví dụ, hen suyễn, tăng phản ứng đường thở, viêm đường thở, nhiễm trùng huyết, sốc nhiễm trùng, viêm da dị ứng, viêm mũi dị ứng, viêm khớp dạng thấp, hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD)); rối loạn miễn dịch (ví dụ, hen suyễn, viêm khớp dạng thấp, dị ứng, dị ứng dị ứng, sốc phản vệ, sốc phản vệ, viêm mũi dị ứng, bệnh vẩy nến, xơ cứng hệ thống, bệnh viêm ruột (IBD), bệnh Crohn, tiêu đường hoặc bệnh gan); rối loạn xơ hóa (ví dụ, xơ hóa phổi vô căn (IPF)); rối loạn tăng bạch cầu ái toan (ví dụ, rối loạn tiêu hóa liên quan đến bạch cầu ái toan, chẳng hạn như viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan); nhiễm trùng (ví dụ, giun sán, động vật nguyên sinh, chẳng hạn như *Leishmania* chính, hoặc nhiễm virus, chẳng hạn như RSV hoặc cúm); đau (ví dụ, đau do viêm); rối loạn hệ thần kinh trung ương (ví dụ, bệnh Alzheimer); khối u rắn (ví dụ, khối u vú, khối u ruột kết, khối u tuyến tiền liệt, khối u phổi, khối u thận, khối u gan, khối u tuyến tụy, khối u dạ dày, khối u ruột, khối u não, khối u xương hoặc khối u da); hoặc rối loạn nhãn khoa. Các rối loạn nhãn khoa cụ thể được điều hòa bởi IL-33 bao gồm nhưng không giới hạn ở: thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác (AMD), bao

gồm AMD thể ướt, AMD thể khô, AMD trung gian, AMD tiến triển và teo địa lý (GA)), bệnh vồng mạc (ví dụ, bệnh tiểu đường) bệnh vồng mạc (DR), bệnh vồng mạc ở trẻ sinh non (ROP) và DR độ cao), bệnh mạch máu hắc mạc đa hình (PCV), phù hoàng điểm do tiểu đường, bệnh khô mắt, bệnh Behcet, bong vồng mạc, tăng nhãn áp, viêm màng bồ đào (ví dụ, nhiễm trùng và không nhiễm trùng), viêm vồng mạc sắc tố, bệnh mù bẩm sinh Leber, bệnh Stargardt, chấn thương mắt và viêm kết mạc (ví dụ, viêm kết mạc nhiễm trùng, viêm kết mạc không nhiễm trùng và viêm kết mạc dị ứng).

Tương tự, một loạt các tình trạng và bệnh liên quan đến chức năng bất thường của IL-1, và do đó, cũng được điều hòa bởi hoạt động của đồng thụ thể IL1RAP bao gồm nhưng không giới hạn ở: viêm tụy cấp; bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS); Bệnh Alzheimer; chứng suy mòn/chán ăn, bao gồm chứng suy mòn do AIDS; hen suyễn và các bệnh phổi khác; xơ vữa động mạch; viêm mạch tự miễn dịch; hội chứng mệt mỏi mạn tính; Các bệnh liên quan đến Clostridium, bao gồm tiêu chảy do Clostridium; tình trạng và chỉ định mạch vành, bao gồm suy tim sung huyết, tái hẹp mạch vành, nhồi máu cơ tim, rối loạn chức năng cơ tim (ví dụ, liên quan đến nhiễm trùng huyết) và ghép bắc cầu động mạch vành; ung thư, chẳng hạn như đa u tủy và u tủy (ví dụ AML hoặc CML) và các bệnh bạch cầu khác, cũng như di căn khối u; bệnh tiểu đường (ví dụ, bệnh tiểu đường phụ thuộc insulin); lạc nội mạc tử cung; sốt, đau cơ xơ hóa; viêm cầu thận; bệnh ghép so với vật chủ/từ chối cấy ghép; sốc mất máu; tăng cảm giác đau; bệnh viêm ruột; tình trạng viêm khớp, bao gồm viêm xương khớp, viêm khớp vẩy nến và viêm khớp dạng thấp; bệnh viêm mắt, có thể liên quan đến, ví dụ như ghép giác mạc; thiếu máu cục bộ, bao gồm thiếu máu não (ví dụ, chấn thương não do chấn thương, động kinh, xuất huyết hoặc đột quỵ, mỗi nguyên nhân có thể dẫn đến thoái hóa thần kinh); bệnh Kawasaki; suy giảm khả năng học tập; bệnh phổi (ví dụ, ARDS); bệnh đa xơ cứng; bệnh cơ (ví dụ, chuyển hóa protein cơ, đặc biệt là trong nhiễm trùng huyết); nhiễm độc thần kinh (ví dụ, như được cảm ứng bởi HIV); loãng xương; đau, bao gồm cả đau liên quan đến ung thư; Bệnh Parkinson; bệnh nha chu; sinh non; bệnh vẩy nến; tái tưới máu chấn thương; sốc nhiễm trùng; tác dụng phụ của xạ trị; bệnh khớp thái dương hàm; rối loạn giấc ngủ; viêm màng bồ đào; hoặc tình trạng viêm do căng cơ, bong gân, tổn thương sụn, chấn thương, phẫu thuật chỉnh hình, nhiễm trùng hoặc các quá trình bệnh khác.

Các chất đóng vai trò là chất đối vận hoặc chất ức chế các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-3 3 và/hoặc IL-3 6 đang được phát triển lâm sàng để điều trị một loạt bệnh

và tình trạng, bao gồm nhưng không giới hạn ở những điều sau : mụn trứng cá, viêm loét đại tràng nặng cấp tính, bệnh Still khởi phát ở người lớn, viêm mũi dị ứng, xơ cứng toàn thân, viêm khớp (bao gồm bệnh gút, bệnh thiếu niên, loãng xương và thấp khớp), đau do viêm khớp, hen suyễn, xơ vữa động mạch, chàm dị ứng, bệnh Behcet, chứng suy mòn, ung thư (bao gồm vú, đại trực tràng, phổi không phải tế bào nhỏ và tuyến tụy), bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, hội chứng khô mắt, hội chứng tự viêm do cảm lạnh có tính chất gia đình, sốt Địa Trung Hải có tính chất gia đình, dị ứng thực phẩm, bệnh vẩy nến mụn mủ toàn thân, viêm tuyến mô hôi mưng mủ, hội chứng tăng IgD, tăng axit uric máu, hội chứng Muckle-Wells, bệnh viêm đa hệ thống khởi phát ở trẻ sơ sinh, đau cơ xương, mụn mủ ở lòng bàn tay, bàn chân, bệnh mạch máu ngoại vi, đau đa cơ do thấp khớp, polyp mũi, vẩy nến, viêm da mủ hoại thư, tái hẹp, thiếu máu hồng cầu hình liềm, viêm xoang, hội chứng định kỳ liên quan đến thụ thể TNF, bệnh tiểu đường loại 2 và viêm loét đại tràng.

Dự tính rằng chế phẩm hoặc chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm hoặc công thức chứa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được sử dụng trong một phương pháp hoặc mục đích sử dụng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bất kỳ trong số các bệnh hoặc tình trạng được liệt kê trên đây có liên quan đến chức năng bất thường của con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và/hoặc IL-36 và do đó được điều hòa bởi hoạt động đồng thụ thể của IL1RAP. Nói chung, những tình trạng và bệnh này bao gồm nhưng không giới hạn ở các bệnh viêm nhiễm, bệnh tự miễn dịch, bệnh đường hô hấp, rối loạn chuyển hóa, nhiễm trùng và ung thư.

Theo đó, theo một số phương án, chế phẩm hoặc công thức chứa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được sử dụng trong phương pháp, liệu pháp, dược phẩm, chẩn đoán hoặc sử dụng để điều trị tình trạng hoặc bệnh được chọn từ mụn trứng cá, viêm tụy cấp, viêm loét đại tràng nặng cấp tính, bệnh Still khởi phát ở người lớn, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), tăng phản ứng đường thở, viêm đường thở, viêm kết mạc dị ứng, viêm mũi dị ứng, dị ứng, bệnh Alzheimer, bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS), sốc phản vệ, đau do viêm khớp, hen suyễn, xơ vữa động mạch, viêm da dị ứng, chàm dị ứng, viêm mạch tự miễn, bệnh Behcet, ung thư xương, ung thư não, ung thư vú, suy mòn/chán ăn, tổn thương sụn, thiếu máu não, hội chứng mệt mỏi mạn tính, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh liên quan đến Clostridium, ung thư ruột kết, suy tim sung huyết, viêm kết mạc, ghép bắc cầu mạch vành, tái hẹp mạch vành, bệnh Crohn,

bệnh tiểu đường, phù hoàng điểm do tiểu đường, bệnh vồng mạc do tiểu đường, bệnh khô mắt, lạc nội mạc tử cung, rối loạn tiêu hóa liên quan đến bạch cầu ái toan, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, hội chứng tự viêm do cảm lạnh có tính gia đình, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, sốt, đau cơ xơ hóa, rối loạn xơ hóa, dị ứng thực phẩm, bệnh vẩy nến mụn mủ toàn thân, bệnh tăng nhãn áp, viêm cầu thận, viêm khớp do gút, bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, nhiễm giun sán, sốc xuất huyết, viêm tuyến mồ hôi mủ, chứng tăng huyết áp, hội chứng tăng IgD, tăng axit uric máu, xơ phổi vô căn (IPF), đau do ung thư, nhiễm trùng, bệnh viêm ruột (IBD), tình trạng viêm nhiễm do căng thẳng, bệnh viêm mắt liên quan đến ghép giác mạc, đau do viêm, cúm, ung thư đường ruột, thiếu máu cục bộ, viêm khớp vị thành niên, bệnh Kawasaki, ung thư thận, bệnh mù bẩm sinh Leber, ung thư gan, bệnh gan, ung thư phổi, hội chứng Muckle-Wells, đa u tủy, bệnh đa xơ cứng, đau cơ xương, đau tủy và các bệnh bạch cầu khác, rối loạn chức năng cơ tim, bệnh cơ, polyp mũi, bệnh viêm đa hệ thống khởi phát ở trẻ sơ sinh, nhiễm độc thần kinh, viêm kết mạc không nhiễm trùng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, phẫu thuật chỉnh hình, viêm xương khớp, loãng xương, đau, mụn mủ lòng bàn tay bàn chân, ung thư tuyến tụy, bệnh Parkinson, nha chu bệnh mạch máu ngoại vi, đau đa cơ do thấp khớp, bệnh lý mạch máu màng đệm đa hình (PCV), sinh non, ung thư tuyến tiền liệt, nhiễm trùng đơn bào, bệnh vẩy nến, viêm khớp vẩy nến, viêm mủ da hoại thư, tổn thương tái tưới máu, virus hợp bào hô hấp (RSV), tái hẹp, bong võng mạc, viêm võng mạc sắc tố, bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP), viêm khớp dạng thấp, sốc nhiễm trùng, thiếu máu hồng cầu hình liềm, tác dụng phụ của xạ trị, viêm xoang, ung thư da, rối loạn giấc ngủ, bong gân, bệnh Stargardt, ung thư dạ dày, bệnh khớp thái dương hàm, thụ thể TNF hội chứng định kỳ liên quan, thải ghép, chấn thương, chấn thương mắt, tiểu đường loại 2, viêm loét đại tràng và viêm màng bồ đào.

Như được bộc lộ trong bản mô tả này, bao gồm cả trong các ví dụ dưới đây, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc chặn truyền tín hiệu nội bào được điều hòa bởi IL1RAP, bao gồm các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và IL-36. Theo đó, theo một số phương án, sáng chế này đề xuất phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này hoặc sử dụng cho đối tượng cần lượng có

hiệu quả trị liệu của chế phẩm được chứa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này và chất mang được dụng.

Như được bộc lộ ở nơi khác trong bản mô tả này, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc ngăn chặn các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và IL-36. Theo đó, sáng chế này cũng đề xuất các phương pháp điều trị bệnh và tình trạng đáp ứng với việc giảm, ức chế, và/hoặc ngăn chặn các con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33, và/hoặc IL-36.

Thêm vào đó, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có khả năng làm giảm, ức chế và/hoặc ngăn chặn truyền tín hiệu nội bào được kích thích bởi chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và/hoặc IL-36 γ . Theo đó, sáng chế này cũng đề xuất các phương pháp điều trị bệnh và tình trạng đáp ứng với việc giảm, ức chế, và/hoặc ngăn chặn truyền tín hiệu nội bào được kích thích bởi chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β , và/hoặc IL-36 γ .

Các con đường truyền tín hiệu IL-1, cũng là các con đường truyền được điều hòa bởi IL1RAP, có liên quan đến nhiều dạng ung thư. Theo đó, theo một số phương án, sáng chế này đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này hoặc cho đối tượng lượng có hiệu quả trị liệu của chế phẩm được bao gồm kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này và chất mang được dụng.

Cả ba con đường truyền tín hiệu IL-1, IL-33 và/hoặc IL-36, cũng là con đường truyền được điều hòa bởi IL1RAP, đều có liên quan đến bệnh hen suyễn. Theo đó, theo một số phương án, sáng chế này đề xuất phương pháp điều trị bệnh hen suyễn ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này hoặc cho đối tượng sử dụng phương pháp lượng có hiệu quả trị liệu của chế phẩm được bao gồm kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này và chất mang được dụng.

Theo một số phương án, sáng chế này đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh được điều hòa bởi IL1RAP, con đường truyền tín hiệu bệnh được điều hòa bởi IL-1, IL-33, và IL-36, và/hoặc bệnh được điều hòa bởi truyền tín hiệu nội bào được kích thích bởi các chất chủ vận IL-1 α , IL-1 β , IL-33, IL-36 α , IL-36 β và/hoặc IL-36 γ . Theo các phương án điều trị như vậy, phương pháp bao gồm sử dụng cho đối tượng cần

điều trị, lượng có hiệu quả trị liệu của kháng thể kháng IL1RAP, hoặc chế phẩm hoặc công thức được chứa kháng thể kháng IL1RAP như được mô tả trong bản mô tả này.

Việc sử dụng kháng thể, chế phẩm, hoặc công thức được phù hợp với phương pháp điều trị cung cấp hiệu quả trị liệu được cảm ứng kháng thể để bảo vệ đối tượng khỏi và/hoặc sự tiến triển điều trị của bệnh được điều hòa bởi IL1RAP ở đối tượng. Theo một số phương án, phương pháp điều trị có thể còn bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều tác nhân hoặc phương pháp điều trị bổ sung mà những người có hiểu biết trong lĩnh vực này đã biết để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP. Các phương pháp bao gồm sử dụng một hoặc nhiều chất bổ sung như vậy có thể bao gồm sử dụng kết hợp (trong đó hai hoặc nhiều tác nhân trị liệu được bao gồm trong cùng công thức hoặc công thức riêng biệt) và sử dụng riêng biệt, trong trường hợp đó, việc sử dụng chế phẩm hoặc công thức kháng thể có thể xảy ra trước khi sử dụng, đồng thời và/hoặc sau khi sử dụng tác nhân trị liệu bổ sung.

Theo một số phương án về phương pháp điều trị theo sáng chế này, kháng thể kháng IL1RAP hoặc công thức được chứa kháng thể kháng IL1RAP được sử dụng cho đối tượng bằng phương thức sử dụng bất kỳ để phân phối tác nhân này có hệ thống, hoặc tới mô đích mong muốn. Sử dụng toàn thân thường đề cập đến phương thức sử dụng kháng thể bất kỳ vào đối tượng tại vị trí khác với trực tiếp vào vị trí, mô hoặc cơ quan đích mong muốn, sao cho kháng thể hoặc công thức của nó đi vào hệ thống tuần hoàn của đối tượng và do đó, là đối tượng trao đổi chất và các quá trình tương tự khác.

Theo đó, các phương thức sử dụng hữu ích trong các phương pháp điều trị theo sáng chế này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tiêm, truyền, nhỏ thuốc, và hít. Sử dụng bằng cách tiêm có thể bao gồm tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp, trong động mạch, trong nội tủy mạc, trong não thất, trong nội nang, trong ổ mắt, trong tim, trong da, trong màng bụng, trong khí quản, dưới da, dưới lớp biểu bì, trong khớp, dưới bao, dưới màng nhện, trong tủy sống, trong não, và tiêm và truyền trong xương ức.

Theo một số phương án, công thức được của kháng thể kháng IL1RAP được bào chế sao cho kháng thể này được bảo vệ khỏi bị bất hoạt trong ruột. Theo đó, phương pháp điều trị có thể chứa công thức sử dụng đường miệng.

Theo một số phương án, việc sử dụng chế phẩm hoặc công thức chứa kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này như được phẩm cũng được đề xuất. Thêm vào đó, theo một số phương án, sáng chế này cũng đề xuất việc sử dụng chế phẩm hoặc công

thức chứa kháng thể kháng IL1RAP trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm, cụ thể là dược phẩm để điều trị, phòng ngừa hoặc ức chế bệnh được điều hòa bởi IL1RAP. Theo một phương án khác, dược phẩm này được sử dụng trong phương pháp điều trị, ngăn ngừa hoặc ức chế bệnh được điều hòa bởi IL1RAP bao gồm việc sử dụng cho cá thể mắc bệnh được điều hòa bởi IL1RAP lượng có hiệu quả của dược phẩm. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này còn bao gồm lượng có hiệu quả của ít nhất một tác nhân trị liệu bổ sung, hoặc điều trị.

Theo một phương án khác, dược phẩm này là để sử dụng trong việc điều trị, ức chế hoặc ngăn ngừa bệnh được điều hòa bởi IL1RAP ở đối tượng bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này lượng có hiệu quả của dược phẩm để điều trị, ức chế hoặc ngăn ngừa bệnh được điều hòa bởi IL1RAP.

Để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng được điều hòa bởi IL1RAP, liều lượng thích hợp của kháng thể kháng IL1RAP có trong chế phẩm và công thức theo sáng chế này (khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung khác) sẽ tùy thuộc vào bệnh hoặc tình trạng cụ thể đang được điều trị, mức độ nghiêm trọng và diễn biến của bệnh, liệu kháng thể được sử dụng cho mục đích phòng ngừa hay trị liệu, liệu pháp trước đây có được sử dụng cho bệnh nhân, tiền sử lâm sàng và đáp ứng của bệnh nhân với kháng thể, và quyết định của bác sĩ điều trị hay không. Kháng thể kháng IL1RAP có trong chế phẩm và công thức được mô tả trong bản mô tả này, có thể được sử dụng thích hợp cho bệnh nhân cùng lúc hoặc trong loạt các phương pháp điều trị. Các lịch trình dùng thuốc khác nhau bao gồm nhưng không giới hạn ở việc sử dụng một lần hoặc nhiều lần trong các thời điểm khác nhau, sử dụng liều lớn và truyền tĩnh mạch được dự tính trong bản mô tả này.

Tùy thuộc vào loại và mức độ nghiêm trọng của bệnh, khoảng 1 pg/kg đến 15 mg/kg của kháng thể kháng IL1RAP trong công thức theo sáng chế này là liều ứng viên ban đầu để sử dụng đối tượng ở người, cho dù, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần sử dụng riêng biệt, hoặc bằng cách truyền liên tục. Nói chung, liều lượng sử dụng của kháng thể sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 0,05 mg/kg đến khoảng 10 mg/kg. Theo một số phương án, một hoặc nhiều liều khoảng 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg hoặc 10 mg/kg (hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng) có thể được sử dụng cho bệnh nhân.

Việc sử dụng liều có thể được duy trì trong vài ngày hoặc lâu hơn, tùy thuộc vào tình trạng của đối tượng, ví dụ, việc sử dụng có thể tiếp tục cho đến khi bệnh được điều

hòa bởi IL1RAP được điều trị đầy đủ, như được xác định bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, liều nạp ban đầu cao hơn có thể được sử dụng, sau đó là một hoặc nhiều liều thấp hơn. Tuy nhiên, chế độ liều lượng khác có thể hữu ích. Tiến trình hiệu quả trị liệu của việc sử dụng liều có thể được theo dõi bằng các kỹ thuật và xét nghiệm thông thường.

Theo đó, theo một số phương án của các phương pháp theo sáng chế này, việc sử dụng kháng thể kháng IL1RAP bao gồm liều hàng ngày nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg/kg đến khoảng 100 mg/kg. Theo một số phương án, liều của kháng thể kháng IL1RAP bao gồm liều hàng ngày ít nhất là khoảng 1 mg/kg, ít nhất là khoảng 5 mg/kg, ít nhất là khoảng 10 mg/kg, ít nhất là khoảng 20 mg/kg, hoặc ít nhất là khoảng 30 mg/kg.

Thêm vào đó, các kháng thể kháng IL1RAP theo sáng chế này có thể được sử dụng trong các phương pháp xét nghiệm để phát hiện IL1RAP. Do khả năng liên kết IL1RAP ở người với ái lực cao, các kháng thể kháng IL1RAP được bộc lộ trong bản mô tả này là thích hợp với nhiều phương pháp và định dạng xét nghiệm. Người ta dự tính rằng các kháng thể kháng IL1RAP có thể được sử dụng trong phương pháp xét nghiệm bất kỳ đã biết, chẳng hạn như xét nghiệm liên kết cạnh tranh, xét nghiệm sandwich trực tiếp và gián tiếp, xét nghiệm kích thích miễn dịch và xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA) (Xem, Sola, 1987, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, trang 147-158, CRC Press, Inc.) để phát hiện và định lượng IL1RAP. Theo đó, theo một số phương án, sáng chế này đề xuất phương pháp phát hiện mức IL1RAP trong mẫu sinh học, phương pháp này bao gồm bước cho mẫu tiếp xúc với kháng thể kháng IL1RAP như được bộc lộ trong bản mô tả này. Hơn nữa, theo một số phương án, người ta dự tính rằng phương pháp phát hiện mức IL1RAP trong mẫu sinh học có thể được sử dụng để phát hiện và/hoặc chẩn đoán tình trạng hoặc bệnh được điều hòa bởi IL 1 RAP trong mẫu sinh học, ví dụ, từ đối tượng ở người.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Tạo ra kháng thể kháng IL-1RAP

Phương pháp

Kháng nguyên đích tái tổ hợp

Các trình tự được tối ưu hóa bằng đơn vị mã hóa ở người mã hóa IL-1RAP ở người có chiều dài đầy đủ (số truy nhập UniProt: Q9NPH3; SỐ ID TRÌNH TỰ: 6) và IL-1RAP chiều dài đầy đủ ở khỉ cynomolgus (số truy nhập: P59822, SỐ ID TRÌNH TỰ:

7) được tổng hợp bởi Twist Biosciatics (San Francisco, Hoa Kỳ). Các vùng ngoại bào hòa tan của IL-1RAP ở người (các gốc từ 21 đến 359; SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) và IL-1RAP ở khỉ cynomolgus (các gốc từ 21 đến 359; SỐ ID TRÌNH TỰ: 2) được tạo dòng trong plasmit pcADN™3.1 đã sửa đổi (ThermoFisher Scientific, danh mục số V79020) để tạo ra protein có đầu C Avitag™ (Avidity EEC) theo sau là nhãn 10-His với trình tự liên kết Gly₃ giữa hai nhãn (viết tắt là IL-1RAP-ECD-Avi-His ở người và IL-1RAP-ECD-Avi-His ở cyno).

Vector biểu hiện mang peptit dẫn đầu VJ2C ở chuột để thúc đẩy quá trình bài tiết sản phẩm cũng như trình tự OriP. Đối với sự biểu hiện protein, các plasmit mã hóa cho IL-1RAP-ECD-Avi-His ở người và IL-1RAP-ECD-Avi-His ở cyno (các gốc từ 21 đến 359; SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 và SỐ ID TRÌNH TỰ: 2, tương ứng) và plasmit không mã hóa được đồng chuyển nhiễm vào các tế bào HEK293-EBNA được làm thích ứng huyền phù (tiêu chuẩn ATCC-LGL, Teddington, Vương quốc Anh; Danh mục Số: CRL-10852) sử dụng Polyethyleneimin (PEI; Polysciences). Tóm lại, các tế bào được chuẩn bị ở mức 8 triệu tế bào mỗi ml trong RPMI 1640 (Biowest) được bổ sung Pluronic F-68 0,1% (Gibco). Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI ở 37°C. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng theo tỷ lệ 1:1 trong EX-CELL® 293 (Sigma Aldrich) được bổ sung Phenol Đỏ và L-Glutamin 4 mM và ủ trong 5 ngày với quỹ đạo lắc ở 37°C, CO₂ 5% và độ ẩm 80%. Sau biểu hiện, chất nổi trên bề mặt đã được làm trong được điều chế bằng cách ly tâm và lọc, pH được điều chỉnh ở 7,4 (4°C) bằng cách sử dụng natri hydroxit 1 M. Các hạt Ni-Sepharose Excell (GE Healthcare) được thêm vào chất nổi trên bề mặt đã được làm trong và ủ qua đêm ở 4°C trong điều kiện khuấy nhẹ. Tiếp theo, các hỗn hợp được nạp vào Cột Econo (Phòng thí nghiệm Bio-Rad) để tinh chế dòng trọng lực. Đầu tiên, các hạt được rửa trong IX PBS, pH 7,4 (1x10 CV), sau đó IX PBS được bổ sung imidazol 20 mM (2x10 CV) và các protein được rửa giải theo quy trình rửa giải từng bước bằng cách sử dụng lần lượt IX PBS, pH 7,4 được bổ sung với imidazol 40 mM (10x1 CV), 80 mM (15x1 CV), 250 mM (4x2 CV) và 500 mM (2x2 CV). Các phân số được phân tích trên SDS-PAGE và được chọn dựa trên độ tinh khiết rõ ràng. Các phân quan tâm sau đó được gộp lại và thẩm tách theo IX PBS, pH 7,4 ở 4°C. Chất lượng protein được đánh giá bằng SDS-PAGE, SE-HPLC và đo nội độc tố. Tóm lại, SE-HPLC được thực hiện bằng cột Tosoh Bioscience TSKgel G3000SWxl (danh mục số 08541, Tosoh Bioscience) ở nhiệt độ

phòng với đệm natri phosphat 0,1 M, natri clorua 0,15 M, độ pH 6,8 ở dạng rửa giải ở tốc độ dòng 1 ml/phút, trên hệ thống HPLC Waters Alliance 2695 với máy dò PDA Waters 2998 (Waters), theo dõi ở bước sóng 214 nm và 280 nm. Hệ thống nhiều hộp Endosafe-MCS từ Charles River sử dụng xét nghiệm dựa trên *Limulus* amebocyte lysate (LAL) được sử dụng để xác nhận mức độ nội độc tố của vi khuẩn thấp hơn 0,5 EU/mg. protein dung hợp ở người và khỉ cynomolgus IL-1RAP-ECD- Avi-His được đánh dấu như được mô tả trong bản mô tả này có SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 và 2, tương ứng.

Các trình tự được tối ưu hóa bằng đơn vị mã hóa ở người mã hóa các miền ngoại bào của IL-1RAP ở gà (số truy nhập: XP_422719,4; SỐ ID TRÌNH TỰ: 3) và thể khảm gà/người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 4 và 5) được tổng hợp bởi Eurofins (Ebersberg, Đức). Các vùng ngoại bào hòa tan của IL-1RAP ở gà (các gốc từ 139 đến 478; SỐ ID TRÌNH TỰ: 3) và các thể khảm IL-1RAP gà/người (IL-1RAP-ECD(ggD1(S139-P246)-hsD2(V132-V233)-hsD3(V234-E359))-Avi-His và IL-1RAP -ECD(ggD1 (S139-H260)-ggD2(S261-V349)-hsD3(V243-E359))-Avi-His; SỐ ID TRÌNH TỰ: 4 và 5, tương ứng) được tạo dòng trong plasmit pcADN™3.1 đã sửa đổi (ThermoFisher Scientific, danh mục số V79020) để tạo ra protein có đầu C Avitag™ (Avidity LLC), theo sau là nhãn 10-His với trình tự liên kết Gly₃ giữa hai nhãn (viết tắt là ggIL-1RAP-ECD-Avi-His; IL-1RAP-ECD(ggD1(S139-P246)-hsD2(V132-V233)-hsD3(V234-E359))-Avi-His và IL-1RAP-ECD(ggD1 (S139-H260)-ggD2(S261-V349)-hsD3(V243-E359))-Avi-His). Vectơ biểu hiện cũng mang peptit dẫn đầu VJ2C ở chuột để thúc đẩy quá trình bài tiết sản phẩm cũng như trình tự OriP. Đối với sự biểu hiện protein, các plasmit đã nêu trên và plasmit không mã hóa đã được đồng chuyển nạp vào các tế bào HEK293-EBNA được làm thích ứng với huyền phù (tiêu chuẩn ATCC-LGL, Teddington, Vương quốc Anh; Danh mục Số: CRL-10852) sử dụng Polyethyleneimin (PEI; Polysciences). Tóm lại, các tế bào đã được chuẩn bị ở mức 8 triệu tế bào trên mỗi ml trong RPMI 1640 (Biowest) được bổ sung Pluronic F-68 0,1% (Gibco). Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI ở 37°C. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng theo tỷ lệ 1:1 trong EX-CELL® 293 (Sigma Aldrich) được bổ sung Phenol Đỏ và 4 mM L-Glutamin và ủ trong 5 ngày với quỹ đạo lắc ở 37°C, CO₂ 5% và độ ẩm 80%. Việc tinh chế các protein tái tổ hợp tuân theo các bước tương tự như các bước được mô tả ở trên ngoại trừ bước rửa giải được thực hiện trong IX PBS được bổ sung 500 mM imidazol. Chất lượng protein được đánh giá bằng SDS-PAGE,

SE-HPLC và phép đo nội độc tố, như mô tả ở trên. IL-1RAP-ECD-Avi-His ở gà, IL-1RAP-ECD(ggD1(S139-P246)-hsD2(V132-V233)-hsD3(V234-E359))-Avi-His và IL-1RAP-ECD(ggD1 (S139-H260)-ggD2(S261-V349)-hsD3(V243-E359))-Avi-His như được mô tả trong bản mô tả này có SỐ ID TRÌNH TỰ: 3,4 và 5, tương ứng.

Dòng tế bào tái tổ hợp

Trình tự được tối ưu hóa bằng mã hóa ở người, hoặc, IL-1RAP ở người có chiều dài đầy đủ (ID trình tự UniProt Q9NPH3; các gốc từ 1 đến 570; SỐ ID TRÌNH TỰ: 6) hoặc IL-1RAP ở khỉ cynomolgus chiều dài đầy đủ (ID trình tự UniProt P59822; các gốc 1-570; SỐ ID TRÌNH TỰ: 7) được tạo dòng trong plasmid pcADN™3.1 được cải biến (ThermoFisher Scientific, danh mục số V79020). Vector này cũng chứa Protein huỳnh quang xanh tăng cường (eGFP) và gen kháng puromycin (với các yếu tố vị trí xâm nhập nội bào (IRES) xen kẽ). Đối với sự biểu hiện protein, các plasmid đã nêu trên được chuyển vào các tế bào CHO-S được làm thích ứng với huyền phù (cGMP banked, Invitrogen, danh mục số A1136401) bằng cách sử dụng Polyetyleneimin (PEI; Polysciences). Tóm lại, các tế bào đã được chuẩn bị ở mức 2 triệu tế bào mỗi ml trong CD CHO (Gibco). Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI ở 37°C. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng 1:1 PowerCHO 2 (Lonza) được bổ sung 4 mM L-Glutamin và được ủ với quỹ đạo lắc ở 37°C, CO2 5% và độ ẩm 80%. Biểu hiện của IL-1RAP ở người hoặc cyno được đánh giá bằng cách theo dõi biểu hiện protein của trình báo cáo eGFP bằng kính hiển vi huỳnh quang. IL-1RAP-ECD-Avi- His protein dung hợp ở người và khỉ cynomolgus được đánh dấu như được mô tả trong bản mô tả này có SỐ ID TRÌNH TỰ: 6 và 7, tương ứng.

Tạo ra thư viện

Thư viện được sử dụng trong bản mô tả này là từ nguồn gốc tổng hợp với tính đa dạng được giới hạn ở chuỗi nặng (CDR-H1, CDR-H2 và CDR-H3) và chuỗi nhẹ VK3-15/JK1 cố định. Thư viện chứa 4 thư viện con khác nhau dựa trên các dòng mầm kháng thể VH1-69, VH3-23, VH3-15 và VH3-53. CDR đã được chọn ngẫu nhiên bằng cách sử dụng Trime oligonucleotit. Các đoạn mRNA được sử dụng để đa dạng hóa CDR-H1 và CDR-H2 được thiết kế cho từng thư viện phụ và mã hóa tính đa dạng xuất hiện tự nhiên dành riêng cho dòng mầm tại các gốc Rabat lần lượt là 27-35 và 50-58. CDR-H3 đã được chọn ngẫu nhiên bằng cách sử dụng tập hợp oligonucleotit mã hóa 15 độ dài CDR-H3 (6-20) và tính đa dạng xuất hiện tự nhiên theo độ dài cụ thể tại các gốc Kabat 95-

102. Các mảnh scFv đa dạng đã được gộp lại để bắt chước sự phân bố chiều dài CDR-H3 tự nhiên và được tạo dòng vào pNGLEN (vector phage pUC119 được sửa đổi nội bộ) và kết quả là phản ứng nối được điện di vào các tế bào *E. coli* TG1. Mỗi thư viện phụ có độ đa dạng nằm trong khoảng từ $1,2 \times 10^{10}$ đến $1,7 \times 10^{10}$, bốn thư viện phụ đạt độ đa dạng tổng cộng là $5,6 \times 10^{10}$.

Chọn lọc thư viện

Các hạt phage được tinh chế từ mỗi thư viện phụ đã được gộp lại ($2,5 \times 10^{11}$ đơn vị tạo phage/thư viện phụ) và chặn bằng muối đệm phosphat (PBS) chứa 3% (w/v) sữa tách kem (MPBS 3%) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng (RT). Các hạt Magnetic Dynabeads® Protein G (Invitrogen, danh mục số 10003D) và 200 nM IgG1 ở người được trộn trong MPBS 3% và được ủ trong 1 giờ tại RT. Phage bị ngăn chặn đã được bỏ chọn đối với các hạt được phủ IgG1 trong 1 giờ tại RT. Phage sau đó được ủ với 50nM protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở người (Acrobiosystems, danh mục số ILP-H5256) trong 2 giờ tại RT. Các phage liên kết với kháng nguyên được bắt giữ trên các hạt Protein G trong 30 phút tại RT và các hạt được rửa năm lần bằng PBS chứa 0,1% (v/v) Tween (PBS-Tween 0,1%) và hai lần với PBS. Các phage được rửa giải bằng 100 mM triethylamin trong 10 phút ở RT và được trung hòa bằng Tris-HCl 1 M pH 8. Các phage được rửa giải được sử dụng để gây nhiễm 10 ml tế bào *E. coli* TG1 đang phát triển theo cấp số nhân. Các tế bào được gây nhiễm được nuôi cấy trong môi trường 2YT trong 1 giờ ở 37°C và tốc độ quay 100 vòng/phút (RPM), sau đó trải trên các đĩa thạch 2YTAG (môi trường 2TY bổ sung 100 pg/ml ampicilin và glucosơ 2%) và ủ qua đêm (ON) ở 30°C. Các khuẩn lạc được loại bỏ khỏi đĩa vào 10 ml 2YT và glycerol 15% (v/v) được thêm vào để bảo quản ở -80°C. Tế bào TG1 từ dự trữ glycerol được tăng trưởng ở 37°C và 240 RPM trong môi trường 2YTAG cho đến khi OD ở 600 nm đạt 0,5. Sau đó, các tế bào được bội nhiễm với phage trợ giúp M13K07 bằng cách sử dụng bội số lây nhiễm (MOI) là 10 trong 1 giờ ở 37°C và 100 RPM. Môi trường dịch nuôi cấy sau đó được thay đổi thành 2YTAK (môi trường 2YT bổ sung 100 pg/ml ampicilin và 50 pg/ml kanamycin) và các tế bào được tiếp tục nuôi cấy ON ở 30°C và 280 RPM. Ngày hôm sau, 10 pl phage chứa chất nổi trên bề mặt không có tế bào được sử dụng cho vòng chọn lọc tiếp theo. Tổng cộng có ba vòng chọn lọc được thực hiện bằng cách sử dụng cùng thiết lập thí nghiệm.

Sàng lọc scFv bằng SPR

Phân tích Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được sử dụng để xác nhận hoạt động liên kết đặc hiệu của các dòng scFv. Các phép đo được thực hiện trên thiết bị Biacore 2000 (Biacore, GE Healthcare) bằng Phần mềm đối chứng Biacore 2000 v3.2 ở nhiệt độ phòng và được phân tích bằng Phần mềm đánh giá Biacore T200 (v3.1) của cùng nhà sản xuất. Protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở người (Acrobiosystems, danh mục số ILP-H5256) và protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở chuột (Sino Biologicals, danh mục số 52657-M02H) được pha loãng riêng lẻ thành nồng độ cuối cùng là 200 nM trong đệm axetat pH 4,5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100350) và sau đó được cố định tương ứng trên Fc2 và Fc4, đến mức khoảng một nghìn đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU) trên CHIP cảm biến CM5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100012) sử dụng bộ kit ghép nối amin theo khuyến nghị của nhà sản xuất. HBS-EP (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100188) đã được sử dụng làm đệm chạy. Các chất chiết xuất chu chất đã lọc được tiêm trực tiếp vào chip cảm biến IL-1RAP Fc ở người và IL-1RAP Fc CM5 ở chuột được ghép cộng hóa trị. Các mẫu được tiêm vào đường dẫn dòng chảy 1, 2, 3 và 4 (đường dẫn dòng chảy 1 và 3 được sử dụng làm tham chiếu) với tốc độ dòng chảy 30 μ l/phút trong 3 phút, sau đó là thời gian phân ly là 5 phút trong đệm chạy. Sau mỗi sự kiện liên kết, bề mặt được tái tạo bằng dung dịch Glycin pH 1,5 10 mM (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100354) được tiêm trong 1 phút với tốc độ 30 μ l/phút. Mỗi phép đo bao gồm các mẫu có nồng độ bằng 0 cũng như các chiết xuất chu chất scFv không liên quan để tham khảo và tính đặc hiệu, tương ứng.

Sàng lọc scFv bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy

Sự liên kết của các dòng scFv với các tế bào CHO biểu hiện thoáng qua protein IL-1RAP ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 6) hoặc protein IL-1RAP ở khỉ cynomolgus (SỐ ID TRÌNH TỰ: 7) được đánh giá bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy. Các khuẩn lạc *E. coli* riêng lẻ từ vòng chọn lọc thứ ba được chọn và phát triển trong môi trường 2TY bổ sung 100 pg/ml ampicilin và glucozo 0,1% trong các đĩa giếng sâu 96 giếng. scFv biểu hiện được cảm ứng bằng cách bổ sung IPTG 0,02 mM và ủ ON ở 30°C và 250 RPM. Các tế bào được ly tâm và chiết xuất chu chất thu được bằng cách tái tạo huyền phù các hạt vi khuẩn trong đệm TES (50 mM Tris-HCl pH 8; 1 mM EDTA pH 8; 20% sucrozo) sau đó ủ trên đá trong 30 phút. Các mảnh vụn của tế bào được loại bỏ bằng cách ly tâm, và chất nổi trên bề mặt chứa scFv được sử dụng trong thí nghiệm đếm

tế bào theo dòng chảy. Các tế bào CHO biểu hiện IL-1RAP và không được chuyển nhiễm đã được cấy với mật độ 10^5 tế bào/giếng trong các đĩa vi chuẩn. Tiếp theo, các đĩa này được ly tâm để loại bỏ chất nổi trên bề mặt tế bào và 100 μ l dịch chiết chu chất đã được pha loãng trước đó theo tỷ lệ 1:1 trong PBS có chứa 3% (w/v) albumin huyết thanh bò (PBS-BSA 3%) được thêm vào từng giếng và các đĩa này được ủ trong 30 phút ở 4°C. Các tế bào sau đó được rửa bằng PBS-BSA 3% và được ủ với kháng thể kháng c-Myc ở biotin-gà (danh mục Gallus Immunotech số ACMYC-B) được pha loãng ở tỷ lệ 1:200 trong PBS-BSA 3% trong 30 phút ở 4°C. Tiếp theo, các tế bào được rửa bằng PBS-BSA 3% và được ủ với streptavidin APC (eBioscience, danh mục số 17-4317) được pha loãng theo tỷ lệ 1:100 trong PBS-BSA 3% trong 30 phút ở 4°C. Cuối cùng, huỳnh quang của tế bào được đo bằng máy đếm tế bào theo dòng chảy FACSCalibur (BD biosciences).

Cạnh tranh scFv bằng ELISA

Khả năng của các dòng scFv cạnh tranh với kháng thể kháng IL-1RAP được đánh giá bằng ELISA. Protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người (Acrobiosystems, danh mục số ILP-H5256) được phủ ON ở 4°C lên các đĩa vi chuẩn 96 giếng ở 1,5 μ g/ml trong PBS. Các đĩa sau đó được rửa ba lần với PBS-Tween 0,05% và chặn bằng PBS-BSA 3% trong 1 giờ tại RT. Sau khi ngăn chặn và rửa, 50 μ l Fab ở 10 μ g/ml được thêm vào các đĩa và ủ trong 30 phút tại RT. Không cần rửa, 50 μ l dịch chiết chu chất được thêm vào và ủ tiếp các đĩa này trong 30 phút ở RT. Các đĩa sau đó được rửa sạch và 50 μ l kháng thể kháng c-Myc ở biotin-gà (danh mục Gallus Immunotech số ACMYC-B) pha loãng với tỷ lệ 1:5000 trong PBS-BSA 3% được thêm vào trong 1 giờ tại RT. Sau khi rửa, streptavidin HRP được pha loãng ở tỷ lệ 1/8000 trong PBS-BSA 0,3% và thêm vào đĩa trong 30 phút tại RT. Sau đó, tấm này được rửa sạch và xét nghiệm được phát triển bằng TMB (Sigma) trong 5 phút tại RT. Sau khi ngừng phản ứng với H₂SO₄ (Sigma), đo độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm bằng máy đo quang phổ.

Biểu hiện Fab và IgG1 LALA

Các cADN mã hóa các vùng hằng số kháng thể khác nhau được tổng hợp gen bởi GENEART AG (Regensburg, Đức) và biến đổi bằng các kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Các sản phẩm PCR được phân hủy bằng các enzym cắt giới hạn ADN thích hợp, được tinh chế và nối trong các plasmit pcADN3.1 đã được sửa đổi (Invitrogen) mang vùng gen khởi động CMV và poly-adenyl hóa kích thích tổ ở bò (poly(A)). Các vectơ

biểu hiện cũng mang oriP, là nguồn gốc của quá trình sao chép plasmid của virus Epstein-Barr và peptit dẫn đầu VJ2C ở chuột để tiết ra chuỗi polypeptit được mã hóa. Để định dạng lại các dòng thư viện scFv thành các mảnh Fab IgG1 ở người hoặc thành IgG1 LALA ở người (IgG1 ở người với các dạng thể L234A và L235A, đánh số EU), mỗi dòng scFv trong vector thư viện phage của nó được sử dụng để khuếch đại các cADN VH riêng lẻ của nó bằng PCR, tiếp theo sản phẩm PCR VH được tạo dòng trong vector pcADN 3.1 đã sửa đổi được mô tả phía trên của cADN mã hóa miền CHI chuỗi nặng IgG1 ở người hoặc ngược dòng của cADN mã hóa miền CHI chuỗi nặng IgG1 ở người, bản lẻ, miền CH2(L234A/L235A) và CH3, trong khi đó chuỗi nhẹ VK3-15/JK1 cố định (SỐ ID TRÌNH TỰ: 71) được sao chép trong vector pcADN 3.1 đã được sửa đổi được mô tả ở trên ngược dòng của cADN mã hóa miền chuỗi nhẹ hằng định kappa ở người.

Đối với biểu hiện Fab và IgG1 LALA, số lượng bằng nhau của vector chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được đồng chuyển hóa thành các tế bào HEK293-EBNA được làm thích ứng với huyền phù (ATCC, danh mục số CRL-10852) bằng cách sử dụng PEL Thông thường, các tế bào được chuẩn bị ở mức 8 triệu tế bào trên mỗi ml trong RPMI được bổ sung Pluronic F-68 0,1%. Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng theo tỷ lệ 1:1 trong EX-CELL® 293 được bổ sung Phenol Đỏ và L-Glutamin 4 mM và ủ trong 5 ngày với việc lắc theo quỹ đạo ở 37°C, CO₂ 5% và độ ẩm 80%. Chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy không có tế bào chứa các protein tái tổ hợp được điều chế bằng cách ly tâm, sau đó lọc, và được sử dụng để tinh chế thêm. Protein Fab được tinh chế bằng cách sử dụng Ma trận ái lực Capture Select™ IgG-CHI (ThermoScientific, danh mục số ThermoScientific. danh mục số 194320050) và protein IgG1 LALA được tinh chế bằng cách sử dụng Nhựa Ái Lực Protein A CaptivA® (Repligen, danh mục số CA-PRI-0100). Đối với cả hai, nhựa ái lực đã được thêm vào chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy đã được lọc và ủ ON ở 4°C với sự trộn nhẹ nhàng. Ngày hôm sau, các hạt nhựa được thu thập vào các cột Poly-Prep (Phòng thí nghiệm Bio-Rad), được rửa bằng PBS và các protein tái tổ hợp được rửa giải bằng đệm axit (thường là glycine 0,1 M pH 3). Sau khi trung hòa với 1/10 thể tích Tris-HCl pH 8, các chế phẩm được trao đổi đệm thành PBS.

Ái lực liên kết Fab đối với IL-RAP

Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được sử dụng để đo ái lực liên kết của các mảnh Fab đối với IL-1RAP ở người, khỉ cynomolgus và/hoặc chuột. Ái lực được đo trên

thiết bị Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare) ở 25°C và được phân tích bằng Phần mềm đánh giá Biacore T200 (v3.1). Các phép đo được thực hiện trên chip cảm biến CM5 Series S (Biacore T200, Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) kết hợp với Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050) hoặc trên chip Series S BiotinCAPture (Biacore, GE Healthcare, danh mục số 28920234). Các phép đo SPR được thực hiện với protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở người có bán trên thị trường (Acrobiosystems, danh mục số ILP-H5256) và protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở chuột (Sino Biologicals, danh mục số 52657-M02H) hoặc với protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở khỉ cynomolgus được đánh dấu biotin được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 2).

Ái lực với IL-1RAP ở người, khỉ cynomolgus và chuột được đánh giá bằng cách cố định IL-1RAP và sử dụng các mảnh Fab làm chất phân tích. Khoảng 100 RU của protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người hoặc chuột đã được thu giữ trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 kết hợp với Fc kháng IgG ở người và khoảng 150 RU protein tái tổ hợp IL-1RAP ở khỉ cynomolgus được đánh dấu biotin đã được bắt giữ trên fc2 của chip Series S BiotinCAPture. Các mảnh Fab được tiêm trong động học chu kỳ đơn ở các nồng độ khác nhau trong khoảng từ 7,8 đến 500 nM, trong đệm HBS-EP+ (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100669) ở tốc độ dòng 30 µl/phút trong 3 phút trên fc1 và fc2 (fc1 đang được sử dụng làm tham chiếu). Sự phân ly được theo dõi trong 5 phút. Sau mỗi chu kỳ, bề mặt được tái tạo với 60 pl dung dịch tái tạo cung cấp cùng với bộ kit bắt giữ Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839) hoặc bộ kit BiotinCAPture (Biacore, GE Healthcare, danh mục số 28920234) tương ứng. Dữ liệu thực nghiệm được xử lý bằng mô hình khớp động học Langmuir 1:1. Các phép đo bao gồm các mẫu không có nồng độ để tham khảo. Các giá trị Chi^2 , U và các gốc được sử dụng để đánh giá chất lượng của sự phù hợp giữa dữ liệu thí nghiệm và các mô hình liên kết riêng lẻ.

Xét nghiệm ngăn chặn *IL-1R1/IL-1β* /IL-1RAP

Khả năng các mảnh Fab ngăn chặn tương tác giữa phức hợp thụ thể/cytokine IL-1RAP và IL-1R1/IL-1β được đánh giá bằng SPR. Khoảng 50 RU protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người (Acrobiosystems, danh mục số ILP-H5256) đã được cố định trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 trước đây đã được phủ Fc kháng IgG ở người (Biacore,

GE Healthcare, danh mục số BR100839) sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050). Mảnh Fab được tiêm ở nồng độ 300 nM trong HBS-EP+ trong 4 phút so với fc1 và fc2 (fc1 đang được sử dụng làm tham chiếu) để đạt đến độ bão hòa của IL-1RAP được cố định ở người, sau đó tiêm lần thứ hai dung dịch IL-1R1 đã trộn sẵn (Hệ thống R&D, danh mục số 296-IR-100) ở 50 nM, IL-1 β (Peprotech, danh mục số 200-0IB) ở 100nM và mảnh Fab ở 300 nM trong đệm HBS-EP+ trong 2 phút. Sau mỗi chu kỳ, bề mặt được tái tạo với 60 pl dung dịch tái tạo cung cấp cùng với bộ kit bắt giữ Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839).

Ảnh xạ miễn

Miền của IL-1RAP được hướng đích bởi các dòng IgG1 LALA đã được xác định bằng xét nghiệm liên kết SPR. Khoảng 150 RU của IgG1 LALA đã được cố định trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 trước đó được phủ Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050). IL-1RAP-avi-his ở người, IL-1RAP-avi-his ở gà, protein khảm bao gồm miền 1 của IL-RAP ở gà được hợp nhất với miền 2 và 3 của IL-1RAP ở người (gg- hs-hs-IL-1RAP- ECD-avi-his) và protein khảm bao gồm miền 1 và 2 của IL-1RAP ở gà được hợp nhất với miền 3 của IL-1RAP ở người (gg-gg-hs-IL-1RAP-avi-his) được tiêm riêng lẻ ở nồng độ 50 nM trong HBS-EP+ trong 3 phút trên fc1 và fc2 (fc1 đang được sử dụng làm tham chiếu), tiếp theo là phân ly trong đệm HBS-EP+ trong 5 phút. Sau mỗi sự kiện liên kết, bề mặt được tái tạo với 60 pl dung dịch tái tạo cung cấp với bộ kit bắt giữ Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839).

Chồng chất quyết định kháng nguyên

Chồng chất quyết định kháng nguyên của các mảnh Fab trên IL-1RAP ở người được đánh giá bằng phương pháp Giao thoa kế lớp sinh học (BLI). Các phép đo được thực hiện trên thiết bị OctetRED96e (ForteBio) và được phân tích bằng phần mềm Data Analysis HT phiên bản 11.1 (Octet, ForteBio). Protein IL-1RAP-avi-his ở người được đánh dấu biotin được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) được nạp ở mức 1 pg/ml trong đệm động học (ForteBio, danh mục số 18-1105) trên Cảm biến sinh học streptavidin SA (ForteBio, danh mục số 15-5019) trong 5 phút. Cảm biến sinh học Streptavidin được cố định với kháng nguyên IL-1RAP ở người được đánh dấu biotin

được nhúng vào dung dịch Fab 1 200 nM (Fab bão hòa) trong 10 phút, sau đó nhúng liên tiếp vào dung dịch hỗn hợp Fab 1 200 nM và Fab 2 200 nM (Fab cạnh tranh) trong 5 phút. Tất cả các bước được thực hiện ở 25°C và lắc 1000 RPM. Các cảm biến sinh học streptavidin mới đã được cố định với IL-1RAP ở người được đánh dấu biotin trước mỗi chu kỳ.

Kết quả

Các dòng ScFv thể hiện sự liên kết đặc hiệu với protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người bằng SPR cũng như sự liên kết đặc hiệu với cả tế bào IL-1RAP CHO ở người và cynomolgus, nhưng không thể hiện sự liên kết với protein dung hợp IL-1RAP Fc ở chuột bởi SPR đã được giải trình tự và trình tự duy nhất đã được định dạng lại trong mảnh Fab để mô tả thêm. Các dòng ScFv thể hiện khả năng liên kết đặc hiệu với cả protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người và protein dung hợp IL-1RAP Fc ở chuột bằng SPR, cũng như thể hiện khả năng liên kết đặc hiệu với cả tế bào IL-1RAP CHO ở người và cynomolgus và cạnh tranh với kháng thể kháng IL-1RAP được biết là ngăn chặn sự tương tác giữa IL-1RAP và phức hợp thụ thể/cytokin IL-1R1/IL-1 β / IL-1RAP và phức hợp thụ thể/cytokin IL-1R1/IL-1 β / IL-1RAP đã được giải trình tự và các trình tự duy nhất cũng được định dạng lại trong mảnh Fab để mô tả thêm đặc tính. Mô tả đặc tính hóa sinh bao gồm đánh giá các mối ái lực liên kết, đánh giá chức năng được thực hiện bằng cách sử dụng các xét nghiệm ngăn chặn IL-1R1/IL-1 β / IL-1RAP và hướng đích quyết định kháng nguyên được xác định bằng cách sử dụng ánh xạ miễn và xét nghiệm chống chất quyết định kháng nguyên.

Ái lực liên kết Fab đối với IL-RAP

Hai mươi bốn dòng Fab thể hiện ái lực liên kết với IL-1RAP ở người với hằng số phân ly cân bằng (KD) dưới 1 μ M như được xác định bởi SPR. dòng kháng IL-1RAP-UCP02-C8, sau đây còn được gọi là kháng IL-1RAP-C8, thể hiện ái lực cao nhất đối với cả IL-1RAP ở người (2,2 nM) và IL-1RAP (2,2 nM) ở khi cynomologus nhưng không liên kết với IL-1RAP ở chuột. Dòng kháng IL-1RAP-UCP02-C3, sau đây còn được gọi là dạng kháng IL-1RAP-C3, thể hiện ái lực cao với IL-1RAP (0,63 nM) ở chuột và ái lực tương tự với IL-1RAP ở người so với dòng kháng IL -1RAP-C8 (2,8 nM và 2,2 nM tương ứng). Tuy nhiên, dạng kháng IL-1RAP-C3 thể hiện ái lực thấp khoảng 40 lần đối với IL-1RAP ở khi cynomolgus (110 nM) hơn so với IL-1RAP ở người (2,8 nM). Số nhận dạng trình tự chuỗi nặng và ái lực liên kết của các dòng được đề cập được báo cáo trong Bảng 1.

Bảng 1: Tổng quan về các dòng Fab đã phát triển và ái lực tương đối của chúng đối với IL-1RAP ở người, khỉ cynomolgus và chuột

Tên dòng	Dòng chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ	IL-1RAP KD (nM) ở người	IL-1RAP KD (nM) ở khỉ Cynomolgus	IL-1RAP KD (nM) ở chuột
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-A4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 8	84,3	103	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-A6	SỐ ID TRÌNH TỰ: 9	223	197	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-B11	SỐ ID TRÌNH TỰ: 10	98,1	78,7	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-B5	SỐ ID TRÌNH TỰ: 11	311	NB	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-C3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 12	2,8	110	0,63
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-C5	SỐ ID TRÌNH TỰ: 13	368	334	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-C8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 14	2,2	2,2	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-C9	SỐ ID TRÌNH TỰ: 15	35,6	27,8	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-D2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 16	49	50,9	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-G1	SỐ ID TRÌNH TỰ: 17	260	345	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-G3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 18	230	296	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-G8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 19	73,5	116	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-H8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 20	328	297	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP02-H9	SỐ ID TRÌNH TỰ: 21	907	682	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-A2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 22	582	589	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-A3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 23	137	177	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-B4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 24	221	220	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-B6	SỐ ID TRÌNH TỰ: 25	545	756	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-C1	SỐ ID TRÌNH TỰ: 26	573	761	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-C2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 27	700	486	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-F4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 28	888	1238	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-G3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 29	279	464	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP03-G4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 30	420	378	NB
Fab kháng IL-1RAP-UCP04-C1	SỐ ID TRÌNH TỰ: 31	16	NB	3,54

NB = không có liên kết có thể phát hiện

Xét nghiệm ngăn chặn IL-1RAP/IL-1R1/IL-1 β

Các mảnh Fab có KD đối với protein dung hợp IL-1RAP Fc ở người dưới 100 nM được đo bằng SPR đã được thử nghiệm trong việc ngăn chặn sự hình thành phức hợp IL-1RAP/IL-1R1/IL-1 β ở người bằng phương pháp Giao thoa kế lớp sinh học Octet. Tất cả các mảnh Fab được thử nghiệm đều được xác nhận là ngăn chặn sự tương tác giữa IL-1RAP ở người và phức hợp thụ thể/cytokin IL-1R1/IL-1 β . Việc ngăn chặn sự tương tác giữa IL-1RAP ở người và phức hợp thụ thể IL-1R1/IL-1 β /cytokin với các dòng kháng IL-1RAP-C8 và kháng IL-1RAP-C3 được minh họa trong Hình 1. Dòng

kháng IL-1RAP-UCP05-EI, sau đây còn được gọi là dạng kháng IL-1RAP-EI, được sử dụng làm đối chứng không ngăn chặn.

Ảnh xạ miễn

Để hiểu rõ hơn về cơ chế hoạt động của dạng kháng IL-1RAP-C8 và xác thực dòng kháng IL-1RAP-C3 với tư cách là vật thay thế có liên quan liên quan đến quyết định kháng nguyên ở chuột, miễn IL-1RAP được hướng đích bởi cả hai kháng thể đã được nghiên cứu. Như được mô tả trong Bảng 1, Fab kháng IL-1RAP-C3 liên kết với IL-1RAP ở người với ái lực tương tự như Fab kháng IL-1RAP-C8. Thuộc tính liên kết này được sử dụng để so sánh quyết định kháng nguyên của cả hai kháng thể bằng cách sử dụng thể khảm IL-1RAP ở người-gà. Như được thể hiện trong Hình 2, cả dạng kháng IL-1RAP-C8 và dạng kháng IL-1RAP-C3 đều hướng đích miền 2 của IL-1 RAP, được biết là có liên quan đến tương tác giữa IL-1, IL-33, và IL-36, các thụ thể tương ứng của chúng và IL-1RAP. Thí nghiệm này cung cấp thông tin chi tiết về khả năng ngăn chặn hiệu lực của dạng kháng IL-1RAP-C8 và dạng kháng IL-1RAP-C3 như khi thay thế ở chuột.

Chồng chất quyết định kháng nguyên

Để xác nhận thêm dạng kháng IL-1RAP-C3 là chất thay thế ở chuột có liên quan cho dạng kháng IL-1RAP-C8, cả hai kháng thể đã được cạnh tranh với nhau bằng cách sử dụng IL-1RAP ở người. Thí nghiệm này được trình bày trong Hình 3 và thể hiện rằng cả hai kháng thể cạnh tranh với nhau và nhận ra quyết định kháng nguyên chồng chéo trên IL-1RAP. Dạng kháng IL-1RAP-EI, được sử dụng làm đối chứng không cạnh tranh.

Ví dụ 2: Tối ưu hóa dòng kháng IL-1RAP-C8

Kháng nguyên đích tái tổ hợp

Protein tái tổ hợp IL-1RAP-ECD(S21-E359)-avi-his ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1), sau đây còn được đề cập đến là protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người, protein tái tổ hợp IL-1RAP-ECD(S21-E359)-avi-his ở khỉ cynomolgus (SỐ ID TRÌNH TỰ: 2), sau đây còn được đề cập đến là protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở khỉ cynomolgus, được sản xuất nội bộ như được mô tả trong Ví dụ 1.

Tạo và chọn lọc thư viện

Năm thư viện trưởng thành ái lực đã được tạo ra bằng cách giới thiệu tính đa dạng trong chuỗi nặng của CDR. CDR-H1, CDR-H2 và CDR-H3 được chọn ngẫu nhiên bằng cách sử dụng oligonucleotit mã hóa NNK thoái hóa (trong đó N là bất kỳ trong số

bốn deoxyribonucleotit và K là G hoặc T) tại các gốc Rabat 27-35, 50-58, 95-101 trừ 2, tương ứng. Mỗi thư viện được tạo bằng cách sử dụng tập hợp oligonucleotit chồng chéo chứa 5 đơn vị mã hóa thoái hóa liên tiếp. CDR-H1 và CDR-H2 cũng được đa dạng hóa bằng cách sử dụng Trime oligonucleotit ở vị trí Rabat 27-35 và 50-58 tương ứng. Năm sản phẩm PCR của thư viện thu được đã được sao chép vào pNGLEN (vector phagor pUC119 được sửa đổi nội bộ) và kết quả là phản ứng nối được điện di vào các tế bào *E. coli* TG1. Các tế bào biến nạp được trải trên các đĩa 2YTAG và được ủ ON ở 30°C. Các khuẩn lạc được loại bỏ khỏi đĩa cho vào 10 ml môi trường 2YT và glycerol 15% (nồng độ cuối cùng) được thêm vào để bảo quản ở -80°C. Các phagor được tạo ra và tinh chế bằng hai bước kết tủa với một phần ba v/v là PEG-6000 20%, NaCl 2,5 M và được tạo huyền phù lại trong PBS.

Các chọn lọc thể hiện phagor đã được thực hiện như được mô tả trong Ví dụ 1 với các sửa đổi sau đây. Mỗi thư viện trưởng thành ái lực được lựa chọn độc lập. Các hạt phagor được tinh chế (10^{12} đơn vị hình thành mảng bám) và hạt từ tính Dynabeads™ MyOne™ Streptavidin C1 (Invitrogen, danh mục số 65002) đã bị chặn bằng MPBS 3% trong 1 giờ tại RT. Phagor đã được bỏ chọn đối với các hạt được ngăn chặn trước trong 1 giờ tại RT. Phagor đã bỏ chọn được ủ với 5nM, 0,5nM và 0,1nM của protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người được đánh dấu biotin được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) cho vòng 1, vòng 2 và vòng 3, tương ứng. Sau 1 giờ ủ, 1 pM protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người được sản xuất nội bộ (không được đánh dấu biotin, SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) được thêm vào trong 3 giờ tại RT trong các vòng 2 và 3. Các phagor liên kết với kháng nguyên được bắt giữ trên các hạt Streptavidin trong 30 phút tại RT và các hạt được rửa năm lần với PBS-Tween 0,1% và hai lần với PBS.

Sàng lọc ái lực bằng SPR

Phân tích SPR được sử dụng để xác nhận hoạt động liên kết đặc hiệu của các dòng scFv mới và xếp hạng các dòng dương tính theo đặc điểm liên kết của chúng. Các phép đo được thực hiện trên thiết bị Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare) bằng Phần mềm đối chứng Biacore T200 v2.0 ở 25°C và được phân tích bằng Phần mềm đánh giá Biacore T200 (v3,1) của cùng nhà sản xuất. Protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) hoặc protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở khỉ cynomolgus được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 2) được pha loãng thành nồng độ cuối cùng là 200 nM trong đệm axetat pH 4,5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số

BR-1003-50) và sau đó được cố định trên Fc2 hoặc Fc4 tương ứng, đến mức khoảng một nghìn đơn vị cộng hưởng (viết tắt là RU) trên Chip cảm biến Series S CM5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050) theo khuyến nghị của nhà sản xuất. HBS-EP+ (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BRI00669) đã được sử dụng làm đệm chạy. Các chất chiết xuất chu chất đã lọc được tiêm trực tiếp vào chip cảm biến IL-1RAP ở người và IL-1RAP CM5 ở khỉ cynomolgus được ghép cộng hóa trị. Các mẫu được tiêm vào đường dẫn dòng chảy 1, 2, 3 và 4 (đường dẫn dòng chảy 1 và 3 được sử dụng làm tham chiếu) với tốc độ dòng chảy 30 μ l/phút trong 3 phút, sau đó là thời gian phân ly là 5 phút trong đệm chạy. Sau mỗi sự kiện liên kết, bề mặt được tái tạo bằng 10 mM Glycin pH 1.5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100354) được tiêm trong 1 phút với tốc độ 30 μ l/phút. Mỗi phép đo bao gồm các mẫu có nồng độ bằng 0 cũng như các chiết xuất chu chất scFv không liên quan để tham khảo và tính đặc hiệu, tương ứng. Các dòng scFv thể hiện các đặc điểm liên kết tốt nhất sau đó được định dạng lại trong mảnh Fab như được mô tả trong Ví dụ 1. Ái lực của Fab với IL-1RAP ở người và IL-1RAP ở cynomolgus được đo như mô tả trong Ví dụ 1, với khoảng nồng độ tiêm Fab được sửa đổi (từ 0,08 nM đến 50 nM).

Biểu hiện IgG1 LALA ở người

Các dòng kháng IL-1RAP thể hiện ái lực cao nhất với IL-1RAP ở người và khỉ cynomolgus sau khi tái tổ hợp CDR được biểu thị ở định dạng LALA IgG1 ở người như được mô tả trong Ví dụ 1. Để loại bỏ vị trí đồng phân hóa tiềm năng (DS) đã biết trong CDRH3 (Rabat) của dòng kháng IL-1RAP-C8-RecC (SỐ ID TRÌNH TỰ: 54), các gốc D100 và S100a (Rabat) được thay thế bằng AA, AS, DA, ES hoặc ET tương ứng thành 5 chuỗi nặng IgG1 LALA bổ sung (SỐ ID TRÌNH TỰ: 55-59). cADN mã hóa chuỗi nặng biến đổi kháng thể khác nhau của dạng kháng IL-1RAP-C8-RecC-AA, dạng kháng IL-1RAP-C8-RecC-AS, dạng kháng IL-1RAP-C8-RecC-DA, dạng kháng IL-1RAP-C8-RecC-ES và dạng kháng IL-1RAP-C8-RecC-ET được xây dựng bằng phương pháp gây đột biến định hướng tại chỗ bằng cách sử dụng các kỹ thuật phân tử tiêu chuẩn và được tạo dòng trong vectơ pcADN 3,1 đã sửa đổi ngược dòng cADN mã hóa CHI, CH2(L234A/ L235A) và các miền CH3 của chuỗi IgG1 ở người như được mô tả trong Ví dụ 1. Các phân tử IgG1 LALA ở người được biểu hiện và tinh chế như được mô tả trong Ví dụ 1 hoặc như sau. Đối với sự biểu hiện của dạng kháng IL1-RAP-C8-RecC-

ES-IgG1-LALA (SỐ ID TRÌNH TỰ: 71 và 72), số lượng bằng nhau của mỗi vector chuỗi được thiết kế và kháng nguyên hạt nhân-1 của Virut Epstein-Barr (EBV) mã hóa vector (EBNA-1) được đồng chuyển nhiễm vào các tế bào CHO-S (cGMP banked, Invitrogen, Danh mục Số A1136401), sử dụng Polyethyleneimin (PEI; Poly sciences). Thông thường, các tế bào được chuẩn bị ở mức 8 triệu tế bào mỗi ml trong môi trường CD-CHO (Gibco). Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI ở 37°C. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng theo tỷ lệ 1:1 trong PowerCHO™ 2 (Lonza) được bổ sung 4 mM L-Glutamin và ủ trong 14 ngày với lắc quỹ đạo ở 32°C, CO₂ 5% và độ ẩm 80%. Chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy tế bào đã được làm trong có chứa các protein tái tổ hợp được điều chế bằng cách ly tâm, sau đó lọc, và được sử dụng để tinh chế thêm. Các kháng thể được tinh chế bằng chế độ dòng trọng lực sử dụng nhựa KANEKA KanCapA™ (Kaneka) tại RT. Các hạt KANEKA KanCapA™ được thêm vào chất nổi trên bề mặt đã được làm trong và ủ qua đêm ở 4°C trong điều kiện khuấy nhẹ. Tiếp theo, hỗn hợp được nạp vào các cột Poly-Prep (Phòng thí nghiệm Bio-Rad) để tinh chế dòng trọng lực. Các hạt này được rửa đầu tiên trong IX PBS, pH 7,4 (1x10 CV) và các protein được rửa giải như mô tả bên dưới. Đối với dạng kháng IL1-RAP-C8-RecC-ES-IgG1-LALA (SỐ ID TRÌNH TỰ: 71 và 72), các protein được rửa giải bằng cách sử dụng quy trình rửa giải từng bước, lần lượt sử dụng natri axetat 50 mM pH 4,3, pH 4,1, pH 3,9 và pH 3,5. Các phần đã thu thập được phân tích trên TRANG SDS và được chọn dựa trên độ tinh khiết rõ ràng. Các phần quan tâm sau đó được gộp lại và thẩm tách theo IX PBS, pH 7,4 ở 4°C. Các kháng thể được tinh chế được bảo quản ở -80°C sau khi lọc vô trùng trên màng lọc 0,2 µm. Chúng được phân tích thêm bằng SDS-PAGE (NuPAGE Bis-Tris acrylamit 4-12%, Invitrogen AG, Basel, Thụy Sĩ) và cGE trên ProteomeLab PA 800 (Beckman Coulter International SA, Nyon, Thụy Sĩ), dưới điều kiện dạng khử và không khử để đánh giá độ tinh khiết. Để xác định hàm lượng monome và dạng tổng hợp, protein được phân tích bằng SE-HPLC. Tóm lại, SE-HPLC được thực hiện bằng cột Tosoh Bioscience TSRgel G3000SWxl (danh mục số 08541, Tosoh Bioscience) ở nhiệt độ phòng với đệm natri photphat 0,1 M, natri clorua 0,15 M, độ pH 6,8 ở dạng rửa giải ở tốc độ dòng 1 ml/phút, trên hệ thống HPLC Waters Alliance 2695 với máy dò PDA Waters 2998 (Waters), theo dõi ở bước sóng 214 nm và 280 nm. Hệ thống nhiều hộp Endosafe-MCS từ Charles River sử dụng xét nghiệm dựa trên Limulus amoebocyte lysate (LAL) được sử dụng để xác nhận mức độ nội độc tố của

vi khuẩn thấp hơn 0,5 EU/mg. Thông thường, đối với các kháng thể được tinh chế, hàm lượng của các dạng tổng hợp thấp hơn 5% và độ tinh khiết được đo bằng SE-HPLC cao hơn 95%.

Ái lực liên kết IgG1 LALA ở người với IL-1RAP ở người và khi cynomoigus

Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được sử dụng để đo ái lực liên kết của các phân tử IgG1 LALA ở người với IL-1RAP ở người và khi cynomoigus. Ái lực được đo trên thiết bị Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare) ở 25°C và được phân tích bằng Phần mềm đánh giá Biacore T200 (v3.1). Các phép đo được thực hiện trên chip cảm biến CM5 Series S (Biacore T200, Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) kết hợp với Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050). Các phép đo SPR được thực hiện với protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) hoặc protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở khi cynomoigus được sản xuất nội bộ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 2). Ái lực với IL-1RAP ở người và khi cynomoigus được đánh giá bằng cách cố định các phân tử IgG1 LALA kháng IL-1RAP và sử dụng protein IL-1RAP làm chất phân tích. Khoảng 150 RU của IgG1 LALA ở người đã được bắt giữ trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 cùng với Fc kháng IgG ở người. Protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người hoặc protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở khi cynomoigus được tiêm trong động học đa chu kỳ ở các nồng độ khác nhau nằm trong khoảng từ 0,14 đến 100 nM, trong đệm HBS-EP+ (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100669) ở tốc độ dòng 30 µl/phút trong 3 phút trên fc1 và fc2 (fc1 được sử dụng làm tham chiếu). Sự phân ly được theo dõi trong 12 phút. Sau mỗi chu kỳ, bề mặt được tái tạo với 60 pl dung dịch tái tạo cung cấp với bộ kit bắt giữ Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839). Dữ liệu thực nghiệm được xử lý bằng mô hình khớp động học Langmuir 1:1. Các phép đo bao gồm các mẫu không có nồng độ để tham khảo. Các giá trị Chi^2 , U và các gốc được sử dụng để đánh giá chất lượng của sự phù hợp giữa dữ liệu thí nghiệm và các mô hình liên kết riêng lẻ.

Kết quả

Sự trưởng thành ái lực của dòng kháng IL-1RAP-C8 (chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ: 14) liên quan đến sự đa dạng hóa của CDR-H1 (các vị trí Rabat 27-35), CDR-H2 (các vị trí Rabat 50-58) và CDR-H3 (các vị trí Rabat 95-101 trừ 2) trong năm thư viện

riêng lẻ. Các dòng ScFv có tốc độ sai lệch chậm hơn so với dòng kháng IL-1RAP- C8 gốc được đo bằng SPR đã được phân lập. Các dòng ScFv được định dạng lại và được biểu thị dưới dạng các mảnh Fab và ái lực với IL-1RAP ở người và khỉ cynomolgus được đo lường như được mô tả trong Ví dụ 1. Từ đánh giá này, các đột biến được chọn có nguồn gốc từ các thư viện CDR-H1 và CDR-H2 đã được kết hợp để cải thiện hơn nữa tỷ lệ sai lệch; một dòng được gọi là dòng Fab kháng IL-1RAP-C8-RecC có ái lực cao nhất với IL-1RAP ở người. Số nhận dạng trình tự chuỗi nặng và ái lực liên kết của các dòng được đề cập với IL-1RAP ở người được báo cáo trong Bảng 2.

Bảng 2: Tổng quan về các dòng Fab đã phát triển và ái lực tương đối của chúng với IL-1RAP ở người

Thư viện	Tên dòng	Dòng chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ	IL-1RAP KD (nM) ở người
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-C4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 32	0,995
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-C8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 33	1,237
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-D8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 34	1,515
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-F1	SỐ ID TRÌNH TỰ: 35	0,832
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-G11 Fab	SỐ ID TRÌNH TỰ: 36	0,742
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-G1	SỐ ID TRÌNH TỰ: 37	0,424
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1A-G3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 38	0,623
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-A8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 39	0,522
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-B10 Fab	SỐ ID TRÌNH TỰ: 40	0,553
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-B8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 41	0,373
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-D8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 42	0,476
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-E7	SỐ ID TRÌNH TỰ: 43	0,831
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-F3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 44	0,427
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-G10 Fab	SỐ ID TRÌNH TỰ: 45	0,313
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C8-H1B-H10 Fab	SỐ ID TRÌNH TỰ: 46	0,209
CDR-H2	Fab kháng IL-1RAP-C8-H2B-B5	SỐ ID TRÌNH TỰ: 47	1,374
CDR-H2	Fab kháng IL-1RAP-C8-H2B-C10 Fab	SỐ ID TRÌNH TỰ: 48	0,589
Tổ hợp	Fab kháng IL-1RAP-C8-recA	SỐ ID TRÌNH TỰ: 49	0,051
Tổ hợp	Fab kháng IL-1RAP-C8-recB	SỐ ID TRÌNH TỰ: 50	0,052
Tổ hợp	Fab kháng IL-1RAP-C8-recC	SỐ ID TRÌNH TỰ: 51	0,038

Một loạt 5 phiên bản đột biến của dòng kháng IL-1RAP-C8-RecC đã được thể hiện trong IgG1 LALA xương sống ở người để đánh giá việc loại bỏ vị trí đồng phân hóa tiềm năng (DS) trong CDRH3 (Rabat). Dòng kháng IL-1RAP-C8-RecC-ES thể hiện ái lực tương tự với IL-1RAP ở người và IL-1RAP ở khỉ cynomolgus so với dòng gốc kháng IL-1RAP-C8-RecC và được mô tả thêm. Số nhận dạng trình tự chuỗi nặng cũng như hằng số động học liên kết trung bình và độ lệch chuẩn được tính toán từ ít nhất hai thí nghiệm độc lập (nếu có) đối với IL-1 RAP ở người và IL-1 RAP ở khỉ cynomolgus của các dòng đã đề cập được báo cáo trong Bảng 3a. Trình tự CDR của các dòng được đề cập được cung cấp trong Bảng 3b. Các ví dụ tiêu biểu về biểu đồ cảm biến liên kết SPR của IgG1 LALA kháng IL-1RAP-C8-RecC-ES ở người và IL-1RAP ở khỉ cynomolgus được thể hiện trong Hình 4.

Bảng 3a: Ái lực liên kết SPR của IgG1-LALA đối với IL-1RAP ở người và khỉ cynomolgus

Tên dòng	Dòng chuỗi nặng	Ái lực với IL-1RAP ở người			Ái lực với IL1RAP ở khỉ cynomolgus		
		KD±SD (nM)	Ka ± SD (1/Ms)	Kd ± SD (1/s)	KD ± SD (nM)	Ka ± SD (1/Ms)	Kd ± SD (1/s)
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-recC LALA	SỐ ID TRÌNH TỰ 54	0,237 ± 0,010	8,40E+0 5± 6,73E+0 4	1,99E- 04 ± 2,04E- 05	0,276 ± 0,039	8,54E+05 ± 3,77E+04	2,36E-04 ± 2,99E-05
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-RecC-AA- IgG1LALA	SỐ ID TRÌNH TỰ 55	0,267 ± 0,014	6,34E+0 5± 5,66E+0 2	1,69E- 04 ± 1,17E- 05	0,240	7,77E+05	1,87E-04
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-RecC-DA	SỐ ID TRÌNH TỰ 56	0,140 ± 0,005	1,16E+0 6± 4,45E+0 4	1,62E- 04 ± 1,53E- 05	0,145	1,31E+06	1,90E-04
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-RecC-AS	SỐ ID TRÌNH TỰ 57	0,287 ± 0,007	5,61E+0 5± 1,44E+0 4	1,61E- 04 ± 1,00E- 05	0,254	6,28E+05	1,60E-04
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-RecC-ES	SỐ ID TRÌNH TỰ 58	0,251 ± 0,038	6,93E+0 5± 7,09E+0 4	1,72E- 04 ± 1,41E- 05	0,306 ± 0,026	6,92E+05 ± 4,94E+04	2,12E-04 ± 1,95E-05
IgG1 LALA kháng IL-IRAP- C8-RecC-ES	SỐ ID TRÌNH TỰ 59	0,278 ± 0,027	9,16E+0 5±	2,53E- 04 ±	0,336	9,16E+05	3,08E-04

C8-RecC-ET			8,51E+0 4	1,16E- 05			
------------	--	--	--------------	--------------	--	--	--

Bảng 3b. Trình tự CDR ở định dạng Rabat, Chothia và IMGT

Tên dòng	Trình tự	SỐ ID TRÌNH TỰ
ISB 880-C8_CDRH1_Kabat 26-35	GGQFSEYAIQ	87
ISB 880-C8_CDRH1_Kabat (31-35)	EYAIQ	269
ISB 880-C8_CDRH1_Chothia (26-31)	GGQFSE	270
ISB 880-C8_CDRH1IMGT (27-38)	GGQFSEYA	271
ISB 880-C8_CDRH2_Kabat 50-58	YIPLHGQVD	147
ISB 880-C8_CDRH2_Kabat (50-65)	YIPLHGQVDYAQKFQG	272
ISB 880-C8_CDRH2_Chothia (52-56)	IPLHGQ	273
ISB 880-C8_CDRH2 IMGT (56-65)	IPLHGQV	274
ISB 880-C8_CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYDSGRQFDI	207
ISB 880-C8_CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	275
ISB 880-C8_CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	276
ISB 880-C8_CDRH3 IMGT (105-117)	ARGQTLYDSGRQFDI	277
ISB 880-C8-H1B-B8 CDRH1 Kabat 26-35	GSPAEPYAIQ	114
ISB 880-C8-H1B-B8 CDRH1 Kabat (31-35)	EPYAIQ	278
ISB 880-C8-H1B-B8 CDRH1 Chothia (26-31)	GSPAEP	279
ISB 880-C8-H1B-B8 CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	280
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH2_Kabat 50-58	YIPLHGQVD	174
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH2_Kabat (50-65)	YIPLHGQVDYAQKFQG	281
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH2_Chothia (52-56)	IPLHGQ	282
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH2 IMGT (56-65)	IPLHGQV	283
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYDSGRQFDI	234
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	284
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	285
ISB 880-C8-H1B-B8_CDRH3 IMGT (105-117)	ARGQTLYDSGRQFDI	286
ISB 880-C8-H2B-C10 CDRH1 Kabat 26-35	GGQFSEYAIQ	121
ISB 880-C8-H2B-C10 CDRH1 Kabat (31-35)	EYAIQ	287
ISB 880-C8-H2B-C10 CDRH1Chothia (26-31)	GGQFSE	288
ISB 880-C8-H2B-C10 CDRH1IMGT (27-38)	GGQFSEYA	289
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	181
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	290
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH2_Chothia (52-56)	IPLSGG	291
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	292
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYDSGRQFDI	241
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	293
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	294
ISB 880-C8-H2B-C10_CDRH3IMGT (105-117)	ARGQTLYDSGRQFDI	295

ISB 880-C8-recC CDRHI Kabat 26-35	GSPAEPYAIQ	124
ISB 880-C8-recC CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	296
ISB 880-C8-recC CDRHI Chothia (26-31)	GSPAEP	297
ISB 880-C8-recC CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	298
ISB 880-C8-recC _CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	184
ISB 880-C8-recC _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	299
ISB 880-C8-recC _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	300
ISB 880-C8-recC CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	301
ISB 880-C8-recC _CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYDSGRQFDI	244
ISB 880-C8-recC _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	302
ISB 880-C8-recC _CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYDSGRQFDI	303
ISB 880-C8-recC _CDRH3_IMGT (105-117)	ARGQTLYDSGRQFDI	304
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH1_Kabat26-35	GSPAEPYAIQ	125
ISB 880-C8-recC-AA CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	305
ISB 880-C8-recC-AA CDRH1Chothia (26-31)	GSPAEP	306
ISB 880-C8-recC-AA CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	307
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	185
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	308
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	309
ISB 880-C8-recC-AA CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	310
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYAAGRQFDI	245
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYAAGRQFDI	311
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_Chothia (95102)	GQTLYAAGRQFDI	312
ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_IMGT (105117)	ARGQTLYAAGRQFDI	313
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH1_Kabat 26-35	GSPAEPYAIQ	126
ISB 880-C8-recC-DA CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	314
ISB 880-C8-recC-DA CDRH1Chothia (26-31)	GSPAEP	315
ISB 880-C8-recC-DA CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	316
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	186
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	317
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	318
ISB 880-C8-recC-DA CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	319
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYDAGRQFDI	246
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYDAGRQFDI	320
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYDAGRQFDI	321
ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_IMGT (105-117)	ARGQTLYDAGRQFDI	322
ISB 880-C8-recC-AS CDRHI Kabat 26-35	GSPAEPYAIQ	127
ISB 880-C8-recC-AS CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	323
ISB 880-C8-recC-AS CDRHI Chothia (26-31)	GSPAEP	324
ISB 880-C8-recC-AS CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	325

ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	187
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	326
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	327
ISB 880-C8-recC-AS CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	328
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYASGRQFDI	247
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYASGRQFDI	329
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYASGRQFDI	330
ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_IMGT (105-117)	ARGQTLYASGRQFDI	331
ISB 880-C8-recC-ES CDRHI Kabat 26-35	GSPAEPYAIQ	128
ISB 880-C8-recC-ES CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	332
ISB 880-C8-recC-ES CDRHI Chothia (26-31)	GSPAEP	333
ISB 880-C8-recC-ES CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	334
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_Kabat 50-58	YIIPSLGGYD	188
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	335
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	336
ISB 880-C8-recC-ES CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	337
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH3_Kabat 93-102	ARGQTLYESGRQFDI	248
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYESGRQFDI	338
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYESGRQFDI	339
ISB 880-C8-recC-ES _CDRH3_IMGT (105-117)	ARGQTLYESGRQFDI	340
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH1_Kabat26-35	GSPAEPYAIQ	129
ISB 880-C8-recC-ET CDRHI Kabat (31-35)	EPYAIQ	341
ISB 880-C8-recC-ET CDRHI Chothia (26-31)	GSPAEP	342
ISB 880-C8-recC-ET CDRH1IMGT (27-38)	GSPAEPYA	343
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_Kabat50-58	YIIPSLGGYD	189
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_Kabat (50-65)	YIIPSLGGYDYAQKFQG	344
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_Chothia (52-56)	IPSLGG	345
ISB 880-C8-recC-ET CDRH2 IMGT (56-65)	IIPSLGGY	346
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH3_Kabat93-102	ARGQTLYETGRQFDI	249
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH3_Kabat (95-102)	GQTLYETGRQFDI	347
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH3_Chothia (95-102)	GQTLYETGRQFDI	348
ISB 880-C8-recC-ET _CDRH3_IMGT (105-117)	ARGQTLYETGRQFDI	349

Ví dụ 3: Tối ưu hóa dòng kháng IL-1RAP-C3

Kháng nguyên đích tái tổ hợp

Protein tái tổ hợp IL-1RAP-ECD(S21-E359)-avi-his ở người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 1), sau đây được gọi là protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người, được sản xuất nội bộ như được mô tả trong Ví dụ 1.

Tạo và chọn lọc thư viện

Sự trưởng thành về ái lực của dòng kháng IL-1RAP-C3 được thực hiện như được mô tả trong Ví dụ 2 với các sửa đổi sau đây. Các hạt phagơ được tinh chế (10^{12} đơn vị hình thành mảng bám) và hạt Dynabeads® Protein G từ tính (Novex, công nghệ Life) đã được ngăn chặn bằng MPBS 3% trong 1 giờ tại RT. IgG1 200 nM ở người đã được bắt giữ trên các hạt Protein G bị ngăn chặn trong 30 phút tại RT. Tiếp theo, các phagơ đã được ngăn chặn đã được bỏ chọn đối với các hạt được phủ IgG1 trong 1 giờ tại RT. Sau đó, các phagơ đã được bỏ chọn lọc được ủ với IL-1RAP-Fc 1nM, 0,5nM và 0,1nM ở chuột (Sino Biological, danh mục số 52657-M02H) cho vòng 1, vòng 2 và vòng 3, tương ứng. Sau 1 giờ ủ, 1 pM protein tái tổ hợp IL-1RAP-avi-his ở người được sản xuất nội bộ (không được đánh dấu biotin, SỐ ID TRÌNH TỰ: 1) được thêm vào trong 3 giờ tại RT trong các vòng 2 và 3. Các phagơ liên kết với kháng nguyên được bắt giữ trên các hạt Protein G trong 30 phút ở RT và các hạt này gấp năm lần với PBS-Tween 0,1% và hai lần với PBS.

Sàng lọc ái lực bằng SPR

Phân tích SPR được sử dụng để xác nhận hoạt động liên kết đặc hiệu của các dòng scFv mới và xếp hạng các dòng dương tính theo đặc điểm liên kết của chúng. Các phép đo được thực hiện như mô tả trong Ví dụ 2 với các sửa đổi sau. IL-1RAP-Fc tái tổ hợp ở chuột (Sino Biological, danh mục số 52657-M02H) đã được pha loãng thành nồng độ cuối cùng là 200 nM trong đệm axetat pH 4,5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100350) và sau đó được cố định trên fc2 thành mức khoảng 1500 RU trên CHIP cảm biến Series S CM5 (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin theo khuyến nghị của nhà sản xuất. Các chất chiết xuất chu chất đã lọc được tiêm trực tiếp vào chip cảm biến IL-1RAP CM5 ở chuột được ghép nối cộng hóa trị trên đường dẫn dòng 1 và 2 (đường dẫn dòng 1 được sử dụng làm tham chiếu). Các dòng scFv thể hiện đặc điểm liên kết tốt nhất đã được định dạng lại trong các mảnh Fab dưới dạng được mô tả trong Ví dụ 1.

Mối quan hệ của các mảnh Fab đối với IL-1RAP ở chuột được đo như mô tả trong Ví dụ 1, với các sửa đổi sau. Các phép đo được thực hiện trên chip cảm biến CM5 Series S (Biacore T200, Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) kết hợp với Fc kháng IgG ở người (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100839) bằng cách sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050). Các phép đo SPR được thực hiện với protein dung hợp IL-1RAP Fc tái tổ hợp ở chuột

có bán trên thị trường (Sino Biologicals, danh mục số 52657-M02H). Mỗi quan hệ với IL-1RAP ở chuột được đánh giá bằng cách cố định IL-1RAP-Fc ở chuột và sử dụng các mảnh Fab làm chất phân tích. Khoảng 60 RU của protein dung hợp IL-1RAP Fc ở chuột đã được bắt giữ trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 kết hợp với Fc kháng IgG ở người. Các mảnh Fab được tiêm trong động học chu kỳ đơn ở các nồng độ khác nhau trong khoảng từ 0,04 đến 5 nM, trong đệm HBS-EP+ (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100669) ở tốc độ dòng 30 μ l/phút trong 3 phút trên fc1 và fc2 (fc1 đang được sử dụng làm tham chiếu). Sự phân ly được theo dõi trong 10 phút.

Biểu hiện IgG2a LALA ở chuột

Đối với sự biểu hiện của IgG2a-LALA kháng IL-1RAP-C3-A3-mm (SỐ ID TRÌNH TỰ: 73 và 74), số lượng bằng nhau của mỗi vectơ chuỗi được thiết kế đã được đồng chuyển đổi vào các tế bào HEK293-EBNA được làm thích ứng với thể huyền phù (tiêu chuẩn ATCC-LGL, Teddington, Vương quốc Anh; Danh mục Số: CRL-10852) sử dụng Polyethyleneimin (PEI; Poly sciences). Thông thường, các tế bào được chuẩn bị ở mức 8 triệu tế bào trên mỗi ml trong RPMI 1640 (Biowest) được bổ sung Pluronic F-68 0,1% (Gibco). Các tế bào sau đó được thay thế bằng hỗn hợp ADN-PEI ở 37°C. Bốn giờ sau khi chuyển nạp, dịch nuôi cấy tế bào được pha loãng theo tỷ lệ 1:1 trong EX-CELL® 293 có bổ sung Phenol Đỏ hoặc BalanCD HEK293 (Irvine Scientific) và L-Glutamin 4 mM và ủ trong 5 ngày với lắc quỹ đạo ở 37°C, CO2 5% và 80% độ ẩm. Chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy không có tế bào chứa các protein tái tổ hợp được điều chế bằng cách ly tâm, sau đó lọc, và được sử dụng để tinh chế thêm. Các kháng thể được tinh chế như được mô tả cho IgG1-LALA kháng IL1-RAP-C8-RecC-ES trong Ví dụ 2, với các sửa đổi sau đây. Đối với IgG2a-LALA kháng IL-1RAP-C3-A3-mm (SỐ ID TRÌNH TỰ: 73 và 74), protein được rửa giải bằng đệm axit (thường là glyxin 0,1 M pH 3,5). Các phần đã thu thập được phân tích trên TRANG SDS và được chọn dựa trên độ tinh khiết rõ ràng. Các phần quan tâm sau đó được gộp lại và thẩm tách theo IX PBS, pH 7,4 ở 4°C. Các kháng thể tinh chế được bảo quản ở -80°C sau khi lọc vô trùng trên bộ lọc 0,2 μ m và được phân tích thêm như được mô tả cho IgG1-LALA kháng IL1-RAP-C8-RecC-ES trong Ví dụ 2.

Ái lực liên kết IgG2a LALA ở chuột với IL-1RAP ở chuột

Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được sử dụng để đo ái lực liên kết của các phân tử IgG2a LALA ở chuột đối với IL-1RAP ở chuột. Mỗi quan hệ được đo trên thiết

bị Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare) ở 25°C và được phân tích bằng Phần mềm đánh giá Biacore T200 (v3.1). Các phép đo được thực hiện trên các chip cảm biến Series S CM5 (Biacore T200, Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100530) kết hợp với Fc kháng IgG ở chuột (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100838) sử dụng bộ ghép nối amin thương mại (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100050). Các phép đo SPR được thực hiện với tái tổ hợp thương mại IL-1RAP-his thích hợp ở chuột (Sino Biologicals, danh mục số 52657-M08H). Ái lực với IL-1RAP ở chuột được đánh giá bằng cách cố định phân tử IgG2a LALA kháng IL-1RAP ở chuột và sử dụng protein IL-1RAP ở chuột làm chất phân tích. Khoảng 150 RU của IgG2a LALA ở chuột đã được bắt giữ trên fc2 của chip cảm biến Series S CM5 cùng với Fc kháng IgG ở chuột. IL-1RAP-his ở chuột được tiêm trong động học đa chu kỳ ở các nồng độ khác nhau, từ 0,14 đến 100 nM, trong đệm HBS-EP+ (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BRI00669) với tốc độ dòng 30 µl/phút trong 3 phút trên fc1 và fc2 (fc1 đang được sử dụng làm tham chiếu). Sự phân ly được theo dõi trong 15 phút. Sau mỗi chu kỳ, bề mặt được tái tạo với 60 pl dung dịch tái tạo cung cấp với bộ kit bắt giữ Fc kháng IgG ở chuột (Biacore, GE Healthcare, danh mục số BR100838). Dữ liệu thực nghiệm được xử lý bằng mô hình khớp động học Langmuir 1:1. Các phép đo bao gồm các mẫu không có nồng độ để tham khảo. Các giá trị Chi^2 , U và các gốc được sử dụng để đánh giá chất lượng của sự phù hợp giữa dữ liệu thí nghiệm và các mô hình liên kết riêng lẻ.

Kết quả

Sự trưởng thành về ái lực của dòng kháng IL-1RAP-C3 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 12) liên quan đến sự đa dạng hóa của CDR-H1 (các vị trí Rabat 27-35), CDR-H2 (các vị trí Rabat 50-53 và 55-58) và CDR-H3 (Rabat vị trí 95-101 trừ 2) trong năm thư viện riêng lẻ. Các dòng ScFv có tốc độ sai lệch chậm hơn so với dòng gốc kháng IL-1RAP-C3 được đo bằng SPR đã được phân lập. Các dòng scFv đã chọn lọc được định dạng lại và biểu thị dưới dạng các mảnh Fab và ái lực với IL-1RAP ở người và cynomolgus được đo như được mô tả trong Ví dụ 1. Một dòng được gọi là dòng Fab kháng IL-1RAP-C3-A3 có ái lực cao nhất với IL-1RAP ở chuột. Số nhận dạng trình tự chuỗi nặng và ái lực liên kết của các dòng đã đề cập được báo cáo trong Bảng 4.

Bảng 4: Tổng quan về các dòng Fab đã phát triển và ái lực tương đối của chúng với IL-1RAP ở chuột

Thư viện	Tên dòng	Dòng chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ	IL-1RAP KD (nM) ở chuột
----------	----------	-----------------------------------	----------------------------

CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO1-A2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 60	0,68
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO1-A3	SỐ ID TRÌNH TỰ: 61	0,14
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO 1-B5	SỐ ID TRÌNH TỰ: 62	0,21
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO 1-B7	SỐ ID TRÌNH TỰ: 63	0,17
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO1-D2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 64	0,22
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO1-F5	SỐ ID TRÌNH TỰ: 65	0,28
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MPO 1-G10	SỐ ID TRÌNH TỰ: 66	0,21
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MP02-B 8	SỐ ID TRÌNH TỰ: 67	0,49
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MP02-F6	SỐ ID TRÌNH TỰ: 68	0,26
CDR-H1	Fab kháng IL-1RAP-C3 -MP02-G2	SỐ ID TRÌNH TỰ: 69	0,32
CDR-H3	Fab kháng IL-1RAP-C3 -UCPO1-H4	SỐ ID TRÌNH TỰ: 70	0,45

Dòng kháng IL-1RAP-C3-A3 đã được chọn lọc như vật thay thế tiềm năng ở chuột cho ứng viên kháng IL-1RAP ở người và được thể hiện trong IgG2a LALA trong xương sống ở chuột, tương đương với kiểu hình IgG1 LALA ở người ở chuột. Số nhận dạng trình tự cũng như hằng số động học liên kết trung bình và độ lệch chuẩn được tính toán từ ít nhất hai thí nghiệm độc lập với IL-1RAP ở người hoặc IL-1RAP ở chuột của dòng đã đề cập được báo cáo trong Bảng 5. Dòng kháng IL-1RAP-C3-A3 không thể hiện liên kết có thể phát hiện liên kết bất kỳ với IL-1RAP ở khỉ cynomolgus bởi SPR (dữ liệu không được thể hiện). Số nhận dạng trình tự cũng như hằng số động học liên kết trung bình và độ lệch chuẩn được tính toán từ ba thí nghiệm độc lập với IL-1RAP ở chuột của dòng đã đề cập được báo cáo trong Bảng 5. Một ví dụ tiêu biểu về biểu đồ cảm biến liên kết SPR của IgG2a LALA kháng IL-1RAP-C3-A3 mm đối với IL-1 RAP ở chuột được thể hiện trong Hình 5.

Bảng 5: Ái lực liên kết SPR của IgG2a LALA ở chuột với IL-1RAP ở chuột

Tên dòng	Dòng chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ	Dòng chuỗi nhẹ SỐ ID TRÌNH TỰ	Ái lực với IL-1RAP ở người			Ái lực với chuột I		L-1RAP
			KD $\pm$ SD (nM)	Ka $\pm$ SD (1/Ms)	Kd $\pm$ SD (1/s)	KD $\pm$ SD (nM)	Ka $\pm$ SD (1/Ms)	Kd $\pm$ SD (1/s)
IgG2a LALA kháng IL-1RAP-C3-A3 mm	SỐ ID TRÌNH TỰ: 73	SỐ ID TRÌNH TỰ: 74	14,0 $\pm$ 0,01	6,41E+03 $\pm$ 1,03E+03	8,97E-04 $\pm$ 1,42E-04	0,545 $\pm$ 0,091	1,38E+05 $\pm$ 6,98E+03	7,46E-05 $\pm$ 9,24E-06

Ví dụ 4: Đặc tính sinh học trong phòng thí nghiệm của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

4.1 Ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở người liên kết đặc hiệu với RAP IL-1 ở người

Liên kết Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (được gọi là dạng kháng IL1RAP-C8-RecC trong bản mô tả này và bao gồm các CDR chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ: 128, 188 và 248 và trình tự chuỗi nhẹ SỐ ID TRÌNH TỰ: 71) trên IL-1 RAP liên kết màng ở người được đánh giá bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy bằng cách sử dụng nhiều dòng tế bào ở người và các loại tế bào ở người như dòng tế bào tế bào sừng HaCaT (AddexBio, T0020001) nhưng cũng như các tế bào sơ cấp ở người (bạch cầu trung tính và nguyên bào sợi ở người).

Tóm lại, các tế bào được thu lại, đếm và trải lên tấm ở mức 50.000 tế bào/giếng trong đĩa đáy tròn 96 giếng. Đĩa được ly tâm ở mức 350g trong 3 phút và các tế bào được tái tạo huyền phù trong 50 µl đệm FACS (PBS (IX) + FCS 2,5% + EDTA 2 mM + NaN₃ 0,05%) chứa các nồng độ khác nhau (từ 50 đến 0,00003 pg/ml) của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc Đối chứng isotyp_5 ở người. Các tế bào nhuộm màu được ủ trong 30 phút ở 4°C, rửa hai lần bằng đệm FACS ở 350g trong 3 phút và được tạo huyền phù lại trong 100 µl kháng thể thứ cấp đơn dòng kháng IgG PE-Cyanin7 ở người (Biolegend, 409316) được pha loãng 1/200 trong đệm FACS. Các tế bào sau đó được rửa hai lần và được tái tạo huyền phù trong 200 µl đệm FACS có chứa vết tế bào chết SYTOX Green (ThermoFisher Khoa học, S34860) và các mẫu được lấy trên thiết bị CytoFlex (Beckman Coulter). Các tế bào được kiểm soát dựa trên kích thước trên FSC so với SSC và được phân tích về cường độ huỳnh quang trung bình nhân (giá trị trung bình nhân) PE-Cyanin7 bằng phần mềm FlowJo. Cuối cùng, cường độ huỳnh quang trung bình nhân tương đối được tính bằng cách trừ đi huỳnh quang của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người trên mỗi huỳnh quang của Đối chứng isotyp_5. Như được mô tả trong hình 6, kháng thể Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người nhận ra IL-1RAP liên kết màng được thể hiện trên dòng tế bào HaCaT và tất cả các tế bào sơ cấp. Nhiều thí nghiệm độc lập đã được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều thể cho. Các giá trị KD liên quan được tóm tắt trong bảng 6.

Bảng 6

Loại tế bào	N	KD +/- SD (nM)
dòng tế bào HaCaT	4	0,75 +/- 0,36
HaCaT IL-1RAP KO	3	N/A
Bạch cầu trung tính ở người	6	1,67 +/- 0,96
Nguyên bào sợi bình thường ở Cynomolgus	4	1,55 +/- 1,45
Nguyên bào sợi bình thường ở người	4	3,1 +/- 2,14

Bảng 6 thể hiện các giá trị KD được xác định từ các thí nghiệm Đếm tế bào theo Dòng chảy trong đó ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) (Hình 6) được ủ với các dòng tế bào và loại tế bào khác nhau. Các giá trị KD được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$) được đưa vào bảng tóm tắt.

Để chứng minh thêm sự liên kết có chọn lọc của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người với IL-1RAP, quy trình tương tự đã được thực hiện đối với dòng tế bào HaCaT đã loại bỏ gen IL-1RAP được tạo ra trước đó và được đặc trưng bên trong. Thí nghiệm được tiến hành theo cùng giao thức được mô tả ở trên. Kết quả từ hình 6 thể hiện kháng thể Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người liên kết chọn lọc với IL-1RAP liên kết màng vì nó không liên kết với dòng tế bào loại bỏ HaCaT IL-1RAP.

4.2 Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người liên kết với IL-1RAP ở cynomolgus trên các tế bào sơ cấp ở khi

Để đánh giá khả năng phản ứng chéo của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người với IL-1RAP ở cynomolgus, quy trình tương tự được mô tả ở trên được thực hiện bằng cách sử dụng nguyên bào sợi ở khi. Trong xét nghiệm này, ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở người liên kết với nguyên bào sợi biểu hiện IL-1RAP ở cynomolgus (hình 6). Các giá trị KD cho loại tế bào được thử nghiệm được tóm tắt trong Bảng 6.

4.3 Ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở người ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-1 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích HaCaT

Để đánh giá tiềm năng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người trong việc ức chế các con đường IL-1, IL-33 và IL-36, một số xét nghiệm đã được phát triển bằng cách sử dụng các hệ thống tế bào khác nhau. Dòng tế bào keratinocytic HaCaT được sử dụng để kiểm tra khả năng ức chế các con đường IL-1 và IL-36 vì dòng tế bào đặc biệt này nhạy cảm với IL-1 và IL-36 nhưng không nhạy cảm với các cytokin IL-33 như được đo bằng quá trình sản xuất xuôi dòng như IL-6 và IL-8 (CXCL8).

Tóm lại, các tế bào HaCaT đã được thu lại, đếm và phân tán lại ở $0,05 \times 10^6$ tế bào/ml trong môi trường DMEM hoàn chỉnh (DMEM + FBS 10% + Glutamin 1% + Pen/Strp 1% + NEAA 1% + NaPyr 1%). Hàng trăm pl tế bào được phân phối trong đĩa đáy phẳng 96 giếng và được ủ ở 37°C , CO_2 5% trong 16 giờ. Ngày hôm sau, các tế bào được ủ với 50 μl Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (nồng độ từ 50 đến 0,000005

pg/ml) hoặc Đối chứng isotyp_5 (liều duy nhất 50 pg/ml), được pha loãng lần lượt trong môi trường xét nghiệm (môi trường DMEM hoàn chỉnh) 30 phút. Khi kết thúc quá trình ủ, 50 µl IL-1β hoặc IL-36γ (cả hai đều từ Peprotech) ở người được cung cấp cho các giếng thích hợp. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, CO2 5%, 100 µl chất nổi trên bề mặt được chuyển sang đĩa đáy tròn 96 giếng và bảo quản trong tủ đông -80°C cho đến khi định lượng cytokin/chemokin. Sản lượng IL-6 và IL-8 trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex sử dụng bộ kit ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, EPX01A-10213-901 và EPX01A-10204-901) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Như được mô tả trong hình 7, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cả chemokin IL-6 và IL-8 khi IL-1β hoặc IL-36γ kích thích tế bào HaCaT. Tác dụng này phụ thuộc vào liều đối với cả hai con đường và thậm chí còn mạnh hơn trên IL-36γ vì các tương tác dẫn đến sự hình thành phức hợp trimeric của IL-36/IL-36R/IL-1RAP yếu hơn so với các tương tác điều chỉnh sự hình thành phức hợp IL-1/IL-1R/IL-1RAP. Các tiêu chí đưa vào đã được thiết lập và áp dụng cho tất cả các xét nghiệm để có đủ cửa sổ kích thích hoặc Chỉ số kích thích (SI) nhằm xác định tỷ lệ phần trăm ức chế. Chỉ số kích thích được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số kích thích} = \frac{\text{Cytokin X giải phóng}_{\text{Chỉ Cytokin}}}{\text{Cytokin X giải phóng}_{\text{Chỉ tế bào}}}$$

- X là cytokin được xem xét (IL-6 hoặc IL-8)
- “Chỉ cytokin” là tình trạng tế bào chỉ được ủ với chất kích thích (IL-1β hoặc IL-36γ)
- “Chỉ tế bào” là điều kiện tế bào được ủ với môi trường.

Hai thí nghiệm độc lập đã được thực hiện và các giá trị ức chế EC₅₀ được tóm tắt trong bảng 7.

Bảng 7: Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-1 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích HaCaT.

Dạng kích thích	Độc	N	EC20	EC50	EC80	Ức chế tối đa
IL-1b	IL-6	1	2,19	8,77	35,05	106,21
IL-1b	IL-8	2	0,88+/-0,34	3,53+/-1,38	14,11+/-5,5	94,65 +/- 3,5
IL-36g	IL-6	2	0,04 +/- 0,03	0,17+/-0,12	0,67 +/- 0,5	107,6+/-3,87
IL-36g	IL-8	2	0,03 +/- 0,02	0,11 +/- 0,07	0,45 +/- 0,29	98,61 +/- 0,75

Bảng này thể hiện các giá trị EC₂₀, EC₅₀, EC₈₀ và Mức ức chế tối đa được xác định từ xét nghiệm kích thích trong đó Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở người (●) hoặc Đối chứng isotyp₃ (■) (Hình 7) được ủ với IL-1 β hoặc IL-36 γ được kích thích HaCaT. Các giá trị EC_x được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các điều kiện kích thích đầy đủ (Chỉ số kích thích >1,8) và các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$) được đưa vào bảng tóm tắt.

4.4 Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở người ức chế sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 trong xét nghiệm kích thích tế bào đơn nhân máu ngoại vi ở người (PBMC)

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi ở người (hPBMC) đã được sử dụng để kiểm tra sự ức chế con đường IL-33 trong xét nghiệm đồng kích thích IL-12. Nó đã được báo cáo trong tài liệu rằng IL-12 hoặc IL-33 một mình không kích hoạt sản xuất IFN- γ tối thiểu từ hPBMC trong khi điều trị kết hợp với IL-33 và IL-12 dẫn đến sản xuất IFN- γ hiệp đồng (Smithgall và cộng sự, 2008; (Ochayon và cộng sự, 2019)

Tóm lại, các hPBMC được thu lại từ những chiếc áo khoác lông xù thu được từ Trung tâm truyền máu La Chaux-de-Fonds (Thụy Sĩ) bằng cách sử dụng phân lập gradien mật độ ficoll. Các tế bào được đếm và tái huyền phù ở 1×10^6 tế bào/ml trong môi trường RPMI hoàn chỉnh (RPMI + FBS 10% + Glutamin 1% + Pen/Strep 1%). Một trăm μ l hPBMC được phân phối trong đĩa đáy tròn 96 giếng. Các tế bào được ủ với 50 μ l IL-12 và IL-33 ở người (cả hai đều từ Peprotech) trong 15 phút. Khi kết thúc quá trình ủ, 50 μ l Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở người (có nồng độ từ 50 đến 0,000005 μ g/ml) được pha loãng định kỳ trong môi trường xét nghiệm (môi trường RPMI hoàn chỉnh) được thêm vào các giếng thích hợp. Kháng thể Đối chứng isotyp₅ đã được thử nghiệm ở liều duy nhất là 50 μ g/ml. Sau 48 giờ ủ ở 37°C, CO₂ 5%, 100 μ l chất nổi trên bề mặt được chuyển sang đĩa đáy tròn 96 giếng và bảo quản trong tủ đông -80°C cho đến khi định lượng nồng độ cytokin. Việc sản xuất IFN- γ trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex sử dụng bộ ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, EPX01A-10228-901) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Quy trình tương tự được thực hiện bằng cách sử dụng kích thích IL-1 β , thay vì IL-33 + IL-12, dẫn đến giải phóng IL-8.

Như được mô tả trong hình 8 (Các đường cong màu xám, hình dưới), Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng IFN- γ cytokin khi kích thích đồng thời IL-12 và IL-33 của PBMC. Tác dụng này phụ thuộc vào liều lượng.

Thêm vào đó, đã có báo cáo rằng IL-1RAP có thể được phát hiện dưới dạng phân tử hòa tan trong máu ngoại vi với nồng độ đạt khoảng 300 ng/ml. Để đánh giá xem Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người có thể ức chế các con đường IL-1/IL-33 khi có IL-1RAP hòa tan hay không, quy trình thí nghiệm tương tự được mô tả ở trên đã được tiến hành với việc bổ sung IL-1RAP hòa tan trong hỗn hợp cytokin IL-1 β hoặc IL-12+IL-33. Các kết quả được thể hiện trong hình 8 và chứng minh rằng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người có thể cạnh tranh với IL-1RAP hòa tan và duy trì khả năng ngăn chặn sự giải phóng cytokin khi kích thích PBMC ở người bằng IL-1 β và IL-33.

Hai thí nghiệm độc lập đã được thực hiện với tổng cộng 6 thể cho. Các giá trị ức chế EC₅₀ được tóm tắt trong bảng 8.

Bảng 8: Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 trong xét nghiệm kích thích tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) ở người.

Dạng kích thích	Độc	IL-1RAP hòa tan	N	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₈₀	Ức chế tối đa
IL-1 β	IL-6	Không có mặt	6	0,01 +/- 0,01	0,04 +/- 0,04	0,17+/-0,15	98,82 +/-2,64
IL-1 β	IL-8	Không có mặt	6	0,02 +/- 0,01	0,08 +/- 0,05	0,33+/-0,18	92,19+/-3,47
IL-1 β	IL-6	Có mặt	6	1,94 +/-1,41	7,76 +/- 5,64	31,06 +/- 22,60	114,25 +/-1,04
IL-1 β	IL-8	Có mặt	6	2,61 +/- 2,04	10,44+/-8,15	41,77 +/- 32,60	107,62+/-10,71
IL-33/IL-12	IFN γ	Không có mặt	6	2,07 +/-2,91	8,28 +/-11,65	33,10+/- 46,61	93,19+/-6,78
IL-33/IL-12	IFN γ	Có mặt	5	14,54+/-19,5	58,16 +/- 77,82	232,56 +/-311,09	143,98 +/-58,06

Bảng 8 thể hiện các giá trị EC₂₀, EC₅₀, EC₈₀ và Mức ức chế tối đa được xác định từ xét nghiệm kích thích trong đó Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người (•) hoặc Đối chứng isotyp_3 (■) (Hình 8) được ủ với IL-1 β hoặc IL-12+IL-33 được kích thích PBMC. Các giá trị EC_x được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính.

Các điều kiện kích thích đầy đủ (Chỉ số kích thích > 1,8) và các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$) được đưa vào bảng tóm tắt.

Kết hợp lại với nhau, những dữ liệu này nêu bật rằng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người đang ức chế hiệu quả tất cả các con đường riêng lẻ bằng cách sử dụng các xét nghiệm tế bào liên quan đến bệnh ở người.

4.5 Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cytokin trong xét nghiệm tái kích thích máu toàn phần khi được kết hợp kích thích cytokin

Mặc dù các xét nghiệm trước đây cho phép đánh giá khả năng ức chế các con đường riêng lẻ của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người, nhưng xét nghiệm máu toàn

phần được sử dụng để đánh giá khả năng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế kết hợp các con đường kích thích IL-1, IL-33 và IL-36. Máu ở người mới thu lại từ các thể cho khỏe mạnh (ống Citrat) được phân phối trong các ống 15 ml và được ủ trước với môi trường đơn độc (RPMI), Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc Đối chứng isotyp_5 (liều lượng bão hòa) trong 30 phút trước khi kích thích bằng kết hợp IL-1 α , IL-1 β , IL-12, IL-33, IL-36 α , IL-36 β và IL-36 γ thành thể tích cuối cùng là 0,6 ml.

Sau 24 giờ ủ ở 37°C, CO₂ 5%, chất nổi trên bề mặt được thu lại. Việc sản xuất các cytokin và chemokin khác nhau trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex bằng cách sử dụng bộ kit đa ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, bộ kit 21 lớp) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phân tích thống kê được tiến hành trên 26 thể cho được thí nghiệm từ 8 thí nghiệm riêng lẻ. Sự khác biệt giữa Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc Đối chứng isotyp_5 được tính toán trong từng thể cho và từng chất phân tích để ghép nối tất cả dữ liệu, sau đó được phân tích bằng cách sử dụng kiểm tra giá trị trung bình (t-Test). Trong trường hợp này, giả thuyết H₀ hoặc null là “giá trị trung bình của sự khác biệt bằng 0”. Nếu giá trị p của t-Test nhỏ hơn 0,05; H₀ bị từ chối, nghĩa là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng Isotyp_5.

Các kết quả được mô tả trong hình 9 thể hiện Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng hầu hết các cytokin và chemokin có ý nghĩa thống kê so với Đối chứng isotyp_5.

4.6 Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế hoạt hóa bạch cầu trung tính khi ủ với môi trường sau kích thích dưới điều kiện HaCaT với IL-1 β và IL-36 γ

Các thành viên họ cytokin IL-1 tham gia vào các quá trình viêm chính liên quan đến sinh lý bệnh (Migliorini và cộng sự, 2020)). Để xác định thêm các đặc tính của ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở người, các xét nghiệm trong phòng thí nghiệm đã được thực hiện để đánh giá khả năng tiềm ẩn của nó trong việc ức chế nhiễu xuyên âm giữa tế bào Neutrophil và tế bào da.

Bạch cầu trung tính được phân lập từ máu mới được thu lại ở người từ các thể cho khỏe mạnh (ống EDTA) bằng cách sử dụng bộ cách ly bạch cầu trung tính ở người EasySep Direct (Stemcell, 19666) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Độ tinh khiết của Bạch cầu trung tính phân lập được đánh giá bằng xét nghiệm đếm tế bào theo dòng chảy sử dụng CD15 làm chất đánh dấu cụ thể cho bạch cầu trung tính.

Môi trường dưới điều kiện HaCaT được điều chế bằng cách ủ các tế bào HaCaT với môi trường, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc Đối chứng isotyp_5 (liều lượng bão hòa) trong 30 phút ở 37°C, CO₂ 5%. Vào cuối quá trình ủ, môi trường đơn giản hoặc sự kết hợp của các cytokin IL-1 β và IL-36 γ ở người (cả hai đều từ Peprotech) đã được thêm vào các giếng thích hợp. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, CO₂ 5%, chất nổi trên bề mặt được chuyển sang đĩa sâu 96 giếng và bảo quản trong tủ đông -80°C cho đến khi định lượng cytokin/chemokin. Sản phẩm IL-8, MCP-1, GRO trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex sử dụng bộ kit ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, EPX01A-10204-901, EPX01B-10281-901 và EPX01A-12122-901) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Ngay sau khi phân lập, bạch cầu trung tính ở người được ủ với môi trường dưới điều kiện đã chuẩn bị trước đó trong 3 giờ ở 37°C, CO₂ 5%. Sau khi ủ, các tế bào được thu lại và nhuộm màu trong 20 phút với các kháng thể được đánh dấu nhắm vào các dấu hiệu bề mặt khác nhau CD45, CD15, CD66b, CD62L, CD11b, CD54 (ThermoFisher Scientific).

Sau 3 giờ ủ, bạch cầu trung tính được hoạt hóa được đặc trưng bởi kiểu hình sau: CD45⁺CD15⁺CD66b⁺CD54⁺CD62L⁻. Bằng cách sử dụng cùng phương pháp được mô tả ở trên, chỉ số kích thích và tỷ lệ phần trăm ức chế đã được tính cho mỗi thể cho bạch cầu trung tính:

$$SI (mẫu) = \frac{\% \text{ bạch cầu trung tính hoạt động mẫu}}{\text{Trung bình } (\% \text{ bạch cầu trung tính hoạt động } \text{chỉ tế bào HaCaT})}$$

% ức chế (mẫu)

$$= \frac{SI_{mẫu} - \text{Trung bình } (SI)_{\text{chỉ tế bào HaCaT}}}{\text{Trung bình } (SI)_{\text{HaCaT được kích thích với tổ hợp cytokin}} - \text{Trung bình } (SI)_{\text{chỉ tế bào HaCaT}}}$$

Sự khác biệt giữa Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc Đối chứng isotyp_5 được tính toán trong mỗi thể cho để ghép nối tất cả dữ liệu, sau đó phân tích bằng cách sử dụng kiểm tra giá trị trung bình (t-Test). Trong trường hợp này, giả thuyết H₀ hoặc null là “giá trị trung bình của sự khác biệt bằng 0”. Nếu giá trị p của t-Test nhỏ hơn 0,05; H₀ bị từ chối, nghĩa là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng Isotyp_5.

Các kết quả được mô tả trong hình 10 thể hiện Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế sự hoạt hóa bạch cầu trung tính được điều hòa bởi chemokine được giải phóng bởi các tế bào HaCaT được kích thích so với Đối chứng isotyp_5.

Ví dụ 5: Đặc tính sinh học trong phòng thí nghiệm của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột

5.1.1 Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột liên kết đặc hiệu với IL-1RAP ở chuột

Khả năng liên kết của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột (bao gồm các CDR chuỗi nặng SỐ ID TRÌNH TỰ: 265, 266, 267 và trình tự chuỗi nhẹ SỐ ID TRÌNH TỰ: 74) IL-1RAP liên kết màng ở chuột được đánh giá bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy sử dụng dòng tế bào có liên quan như dòng tế bào NIH-3T3 nguyên bào sợi Murine (ATCC, CRL-1658).

Tóm lại, các tế bào được thu lại, đếm và trải lên tấm ở mức 50.000 tế bào/giếng trong đĩa đáy tròn 96 giếng. Ly tâm tấm này ở 350 g trong 3 phút và các tế bào được tái tạo huyền phù trong 50 µl đệm FACS (PBS (IX) + FCS 2,5% + EDTA 2 mM + NaN₃ 0,05%) chứa các nồng độ khác nhau (từ 20 đến 0,0001 pg/ml) của kháng thể Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột hoặc Đối chứng isotyp_2. Các tế bào nhuộm màu được ủ trong 30 phút ở 4°C, rửa hai lần bằng đệm FACS ở 350g trong 3 phút và được tạo huyền phù lại trong 100 µl kháng thể đơn dòng thứ cấp kháng IgG PE-Cyanin7 ở chuột (Biolegend, 407114) được pha loãng 1/200 trong đệm FACS. Sau đó, các tế bào được rửa hai lần và được tạo huyền phù lại trong 200 µl đệm FACS có chứa vết tế bào chết SYTOX Green (ThermoFisher Khoa học, S34860) và các mẫu được lấy trên thiết bị CytoFlex (Beckman Coulter). Các tế bào được kiểm soát dựa trên kích thước trên FSC so với SSC và được phân tích về cường độ huỳnh quang trung bình nhân (giá trị trung bình nhân) PE-Cyanin7 bằng phần mềm FlowJo. Cuối cùng, cường độ huỳnh quang trung bình nhân tương đối được tính bằng cách trừ đi huỳnh quang của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột cho mỗi huỳnh quang của Đối chứng isotyp_2. Như được mô tả trong hình 11, kháng thể Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột nhận ra IL-1RAP liên kết màng được thể hiện trên dòng tế bào NIH-3T3. Nhiều thí nghiệm độc lập đã được thực hiện. Các giá trị K_D liên quan được tóm tắt trong bảng 9.

Bảng 9: Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột liên kết đặc hiệu với IL-1RAP ở chuột

Loại tế bào	N	KD +/- SD (nM)
NIH-3T3	2	1,15 +/-1,53

Bảng này thể hiện các giá trị KD được xác định từ các thí nghiệm Đếm tế bào theo dòng chảy trong đó ứng viên 1 kháng IL-1RAP ở chuột (•) hoặc Đối chứng isotyp₂ (■) (Hình 11) được ủ với dòng tế bào NIH-3T3. Các giá trị KD được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$) được đưa vào bảng tóm tắt.

5.1.2 Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở chuột ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích NIH-3T3

Tiềm năng của Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở chuột để ức chế các con đường IL-1, IL-33 và IL-36 đã được thử nghiệm với dòng tế bào nguyên bào sợi NIH-3T3 (ATCC, CRL-1658) bằng phương pháp tương tự được mô tả ở trên cho dòng tế bào HaCaT.

Tóm lại, các tế bào được thu lại, đếm và tái huyền phù ở $0,05 \times 10^6$ tế bào/ml trong môi trường DMEM hoàn chỉnh (DMEM + FBS 10% + Glutamin 1% + Pen/Strp 1% + HEPES 1% + β -mercaptoetanol 0,1%). Hàng trăm pl tế bào được phân phối trong đáy đĩa fiat 96 giếng và được ủ ở 37°C, CO₂ 5% trong 16 giờ. Ngày hôm sau, các tế bào được ủ với 50 μ l Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở chuột (nồng độ từ 50 đến 0,000005 pg/ml) hoặc Đối chứng isotyp₂ (liều duy nhất 50 pg/ml), pha loãng lần lượt trong môi trường xét nghiệm (môi trường DMEM hoàn chỉnh) 30 phút. Khi kết thúc quá trình ủ, 50 μ l IL-1 β ở chuột hoặc IL-33 ở người hoặc tổ hợp IL-36 α , P hoặc y ở chuột (tất cả từ Peprotech ngoại trừ mIL-36 cytokin, Hệ thống R&D) đã được cung cấp cho các giếng thích hợp. Sau 24 giờ đến 48 giờ ủ ở 37°C, CO₂ 5%, 100 pl chất nổi trên bề mặt được chuyển sang đĩa đáy tròn 96 giếng và bảo quản trong tủ đông -80°C cho đến khi định lượng cytokin/chemokin. Sản phẩm IL-6 và CXCL-1/GRO- α trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex sử dụng bộ ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, EPX01A-20603-901 và EPX01A-26031-901) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Như được mô tả trong hình 12, Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở chuột ức chế giải phóng cả cytokin IL-6 và CXCL-1/GRO- α chemokin khi IL-1 β ở chuột, IL-33 ở người hoặc IL-36 ở chuột kích thích các tế bào NIH-3T3. Tác dụng của Ứng viên₁ kháng IL-1RAP ở chuột đối với IL-1 β ở chuột rất yếu vì các tế bào đó ít nhạy cảm hơn với kích thích IL-1 β ở chuột dẫn đến cửa sổ kích thích rất nhỏ. Hiệu ứng này phụ thuộc vào liều lượng đối với các con đường IL-33 và IL-36. Các tiêu chí đưa vào đã được thiết lập và áp dụng cho tất cả các xét nghiệm để có đủ cửa sổ kích thích hoặc Chỉ số kích thích (SI) nhằm xác định tỷ lệ phần trăm ức chế.

Nhiều thí nghiệm đã được thực hiện với các biến thể có phần Fc của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột, thí nghiệm cuối cùng nhất quán với các phát hiện trước đó và được mô tả trong Hình 12 và các giá trị ức chế EC₅₀ được tóm tắt trong bảng 10.

Bảng 10: Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế cả sự giải phóng cytokin được cảm ứng IL-33 và IL-36 trong xét nghiệm kích thích NIH-3T3

Dạng kích thích	Độc	EC ₅₀ (nM)	Ức chế tối đa (%)
mIL-1b	mIL-6	3,14	47,1
hIL-33	mIL-6	1,02	103,6
mIL-36	mCXCL-1	1,68	108,1

Bảng thể hiện các giá trị EC₅₀ và Mức ức chế tối đa được xác định từ xét nghiệm kích thích trong đó Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột (•) hoặc Đối chứng isotyp_2 (■) (Hình 12), được ủ với mIL-1β, hIL-33 hoặc mIL-36s được kích thích NIH-3T3. Các giá trị EC_x được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các điều kiện kích thích đầy đủ (Chỉ số kích thích > 1,8) và các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ (R² > 0,7) được đưa vào bảng tóm tắt.

Ví dụ 6: Hiệu quả của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột trong mô hình chuột được cảm ứng gây viêm cấp tính *trong cơ thể*

Vật liệu và phương pháp

Nuôi nhốt động vật:

Các thí nghiệm *trong cơ thể* đã được thực hiện trên chuột cái C57BL/6JRj 6-7 tuần tuổi có khả năng miễn dịch từ JANVIER EABS. Tất cả chuột được duy trì trong điều kiện môi trường tiêu chuẩn trong lồng gặm nhấm (nhiệt độ phòng 20 ± 1°C, độ ẩm tương đối 50 ± 10%, chu kỳ sáng tối 12 giờ). Chuột nhận được thức ăn và giường chiếu xạ và 0,22 pm-nước uống được lọc.

Mô hình chuột được cảm ứng gây viêm cấp tính *trong cơ thể*

Hai thí nghiệm đã được tiến hành và được đặt tên lần lượt là nghiên cứu Bely_4 và Bely_5.

Nghiên cứu Bely_4. C57BL/6JRj ở chuột được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0. Hai giờ sau khi tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 24 giờ sau lần tiêm thuốc thứ nhất, chuột được làm chết. Huyết thanh chuột, tế bào lách và dịch rửa trong màng bụng được thu lại để phân

tích *ngoài cơ thể*. Luminex đã được thực hiện trên huyết thanh chuột. Phân tích FACS được thực hiện trên tế bào lách và dịch rửa trong màng bụng.

Nghiên cứu Bely_5. Chuột C57BL/6JRj ở được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0, ngày 1 và ngày 2. Hai giờ sau khi tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 24 giờ và/hoặc 72 giờ sau lần tiêm thuốc thứ nhất, chuột được làm chết. Huyết thanh chuột, tế bào lách và dịch rửa trong màng bụng được thu lại để phân tích *ngoài cơ thể*. Luminex đã được thực hiện trên huyết thanh chuột. Phân tích FACS được thực hiện trên tế bào lách và dịch rửa trong màng bụng.

Chuẩn bị mẫu chuột cho quá trình đếm tế bào theo dòng chảy.

Đối với tế bào lách, lá lách đã được thu lại và phân tách cơ học. Huyền phù tế bào đã được lọc và ly tâm. Các tế bào sau đó được đếm và nhuộm màu để định hình tế bào miễn dịch. Nhuộm với bảng kháng thể hoàn chỉnh và các đối chứng tương đối đã được chuẩn bị trong đệm FACS. Các mẫu được phân tích trên thiết bị đèn phía Bắc (CYTEK). Dữ liệu được phân tích bằng Kaluza và GraphPad Prism 8.

Để rửa trong màng bụng, PBS được tiêm vào khoang bụng. Khoang bụng được xoa bóp nhẹ nhàng để tách các tế bào và chất lỏng sau đó được thu thập bằng cách rạch đường trong khoang bụng. Huyền phù tế bào đã được lọc và ly tâm. Các tế bào sau đó được đếm và nhuộm màu để định hình tế bào miễn dịch. Nhuộm với bảng kháng thể hoàn chỉnh và các đối chứng tương đối đã được chuẩn bị trong đệm FACS. Các mẫu được phân tích trên thiết bị đèn phía Bắc (CYTEK). Dữ liệu được phân tích bằng Kaluza và GraphPad Prism 8.

Chuẩn bị mẫu chuột cho xét nghiệm Luminex.

Các mẫu huyết thanh được đánh giá bằng định lượng Multiplex Luminex theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các hạt, mẫu trong cơ thể và/hoặc chất nổi trên bề mặt và các chất chuẩn pha loãng được cung cấp bởi bộ kit, được thêm vào các đĩa, ủ qua đêm. Kháng thể phát hiện được thêm vào các đĩa và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa sạch và thêm streptavidin-PE và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa sạch và đệm đọc được thêm vào và ủ ở nhiệt độ phòng trước khi đọc bằng thiết bị Luminex 200. Dữ liệu Luminex được phân tích bằng phần mềm Phân tích ProcartaPlex 1.0. Nồng độ cytokin đã được chuẩn hóa thành giới hạn định lượng trên

(ULOQ) và dưới (LLOQ). Tất cả dữ liệu bên dưới LLOQ được đặt ở điểm thấp nhất của các đường cong tiêu chuẩn và được coi là không thể phân tích được (đối với phân tích GraphPad Prism, không cho phép số 0). Dữ liệu được phân tích bằng Excel và GraphPad Prism 8.

Phân tích thống kê

Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Graphpad Prism 8. Phân tích thống kê được thực hiện: phân tích phương sai một chiều (ANOVA), sau đó là so sánh bội của Dunnett. $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Mức độ ý nghĩa được thể hiện bằng dấu hoa thị. (**** cho $< 0,0001$; *** cho $0,0001$; ** cho $0,001$ và * cho $0,01$).

Kết quả và kết luận

Hiệu quả của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột (bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 73 và SỐ ID TRÌNH TỰ: 74) đã được thử nghiệm trên hai mô hình chuột được cảm ứng gây viêm cấp tính *trong cơ thể* độc lập. C57BL/6JRj ở chuột được tiêm trong màng bụng với các phương pháp điều trị khác nhau vào ngày 0 của nghiên cứu thứ nhất và ngày 0, ngày 1 và ngày 2 của nghiên cứu thứ hai. Hai giờ sau mỗi lần tiêm thuốc điều trị, chuột được tiêm trong màng bụng hỗn hợp interleukin (IL-1 beta ở chuột, IL-33 ở người và IL36 alpha, beta và gama ở chuột). 24 giờ sau lần tiêm thứ nhất của phương pháp điều trị cho nghiên cứu thứ nhất và 72 giờ sau lần tiêm thứ nhất của phương pháp điều trị cho nghiên cứu thứ hai, những con chuột được làm chết. Huyết thanh chuột, tế bào lách và dịch rửa trong màng bụng được thu lại để phân tích *ngoài cơ thể*.

24 giờ sau lần tiêm thứ nhất, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột thể hiện sự điều biến IL-5 giảm đáng kể (Hình 1) so với nhóm đối chứng (giá trị $p=0,0018$). Không có sự điều biến giảm đáng kể IL-5 được cảm ứng bởi điểm chuẩn Anakinra (giá trị $p=0,1611$) và mIL36Ra (giá trị $p=0,4719$).

Thử nghiệm so sánh nhiều lần của Dunnett	Khác biệt trung bình,	95,00% CI của khác biệt,	Có ý nghĩa?	Tóm tắt	Giá trị P đã điều chỉnh
Chuột được điều trị bằng IL so với chuột không được điều trị	317,4	126,1 đến 508,6	Có	***	0,0006
Chuột được điều trị bằng IL so với Đối chứng isotyp 1	44,69	-146,5 đến 235,9	Không	ns	0,97
Chuột được điều trị bằng IL so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột	285,5	94,24 đến 476,7	Có	**	0,0018
Chuột được điều trị bằng IL so với Anakinra (chất đối vận thụ thể IL-1)	-151,6	-342,8 đến 39,61	Không	ns	0,1611
Chuột được điều trị bằng IL so với mIL36Ra (mIL1F5)	106,1	-85,13 đến 297,3	Không	ns	0,4719

Bảng 11 Phân tích thống kê của Hình 13

72 giờ sau lần tiêm thứ nhất, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột thể hiện sự điều biến giảm đáng kể của IL-5 (Hình 14) và Gro-alpha (Hình 3) so với nhóm đối chứng (tương ứng là giá trị $p=0,0356$ và giá trị $p=0,0009$). Không có sự điều biến giảm đáng kể IL-5 được cảm ứng bởi điểm chuẩn Anakinra (giá trị $p=0,5413$) và mL36Ra (giá trị $p=0,1337$). Điều chỉnh giảm đáng kể Gro-alpha được cảm ứng bởi Anakinra (giá trị $p=0,0162$) chứ không phải bởi mL36Ra (giá trị $p=0,933$).

Thử nghiệm so sánh nhiều lần của Dunnett	Khác biệt trung bình,	95,00% CI của khác biệt,	Có ý nghĩa?	Tóm tắt	Giá trị P đã điều chỉnh
Chuột được điều trị bằng IL so với chuột không được điều trị	317,4	17,36 đến 617,3	Có	*	0,0356
Chuột được điều trị bằng IL so với Đối chứng isotyp 1	235,5	-64,48 đến 535,5	Không	ns	0,1589
Chuột được điều trị bằng IL so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột	317,4	17,36 đến 617,3	Có	*	0,0356
Chuột được điều trị bằng IL so với Anakinra (chất đối vận thụ thể IL-1)	-148,2	-448,2 đến 151,8	Không	ns	0,5413
Chuột được điều trị bằng IL so với mL36Ra (mL1F5)	245,8	-54,19 đến 545,8	Không	ns	0,1337

Bảng 12 Phân tích thống kê của Hình 14

Thử nghiệm so sánh nhiều lần của Dunnett	Khác biệt trung bình,	95,00% CI của khác biệt,	Có ý nghĩa?	Tóm tắt	Giá trị P đã điều chỉnh
Chuột được điều trị bằng IL so với chuột không được điều trị	18,25	7,852 đến 28,65	Có	***	0,0003
Chuột được điều trị bằng IL so với Đối chứng isotyp 1	-4,666	-15,06 đến 5,731	Không	ns	0,6704
Chuột được điều trị bằng IL so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột	16,64	6,242 đến 27,04	Có	***	0,0009
Chuột được điều trị bằng IL so với Anakinra (chất đối vận thụ thể IL-1)	12,24	1,845 đến 22,64	Có	*	0,0162
Chuột được điều trị bằng IL so với mL36Ra (mL1F5)	2,92	-7,477 đến 13,32	Không	ns	0,933

Bảng 13 Phân tích thống kê Hình 15

Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế giải phóng IL-5 trong huyết thanh chuột 24 giờ và 72 giờ sau khi tiêm interleukin và ức chế giải phóng Gro-alpha trong huyết thanh chuột 72 giờ sau khi tiêm interleukin. Những dữ liệu này xác nhận rằng so

với các điểm chuẩn, IL-1RAP hướng đích cho phép chặn các con đường truyền tín hiệu IL-36, IL-33 và IL1 *trong cơ thể*.

Ví dụ 7: Hiệu quả của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột trong mô hình chuột được cảm ứng gây viêm mạn tính *trong cơ thể*

Vật liệu và phương pháp

Nuôi nhốt động vật:

Các thí nghiệm *trong cơ thể* đã được thực hiện trên chuột cái C57BL/6J 8-9 tuần tuổi có khả năng miễn dịch (JR #00664) được lai tạo bởi Phòng thí nghiệm Jackson (Bar Harbor, ME). Tất cả chuột được duy trì trong điều kiện môi trường tiêu chuẩn trong lồng gặm nhấm (nhiệt độ phòng $20 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm tương đối $50 \pm 10\%$, chu kỳ sáng tối 12 giờ). Chuột nhận thức ăn và giường chiếu xạ và 0,22 pm- nước uống được lọc.

Mô hình chuột giống bệnh vảy nến

Các quan sát và thủ tục trong khi còn sống. Chuột được cân ba ngày trước khi bắt đầu nghiên cứu và trong suốt giai đoạn sống. Chuột được cạo lông 48 giờ trước khi áp dụng IMQ. Lưng của những con chuột bị cạo lông và cả hai tai được bôi kem IMQ 5% (Aldara®) hàng ngày. Các vùng da được điều trị bằng IMQ được phủ bằng băng Tegaderm™ mờ đục vô trùng như phương tiện để bảo vệ vùng bôi ngoài da. Các phương pháp điều trị được thực hiện trên chuột qua đường trong màng bụng ba ngày một lần đối với tất cả các phân tử ngoại trừ Anakinra, được tiêm qua đường trong màng bụng mỗi ngày. Chuột được kiểm tra thể chất hàng ngày và điểm số PASI (Khu vực bệnh vảy nến và Chỉ số mức độ nghiêm trọng) được áp dụng như sau: Ban đỏ (kích ứng/đỏ da) và hình thành vảy (vảy) (điểm 1-4)/Thang điểm mức độ nghiêm trọng và mở rộng quy mô (điểm 1-4). Khi kết thúc nghiên cứu, da lưng được thu lại để phân tích *ngoài cơ thể*. Mô học đã được thực hiện trên da lưng.

Chuẩn bị mẫu chuột cho thí nghiệm *ngoài cơ thể*

Phân da lưng bên trái được cắt thành dải rộng 1 cm (mặt cắt ngang) trước khi định hình bằng Formalin 4%.

Xét nghiệm mô học

Da lưng (4 mẫu trên mỗi tấm kính) được nhuộm hematoxylin. Các tấm kính được phân tích bằng phần mềm tiêu chuẩn cellSens. Định lượng sự hình thành chốt Rete (được đặt tên là Acanthosis) được thực hiện trên 4 mẫu da trên mỗi tấm kính trên mỗi con

chuột / 10 ảnh trên mỗi tấm kính / 6 con chuột trên mỗi nhóm. Ghi điểm kép đã được thực hiện. Dữ liệu được phân tích bằng Excel và GraphPad Prism 8.

Phân tích thống kê

Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Graphpad Prism 8. Phân tích thống kê được thực hiện: phân tích phương sai một chiều (ANOVA), sau đó là thử nghiệm so sánh nhiều lần của Dunnett để so sánh nhiều lần. $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Mức ý nghĩa được biểu thị bằng dấu hoa thị (**** cho $< 0,0001$; *** cho $0,0001$; ** cho $0,001$ và * cho $0,01$).

Kết quả và kết luận

Bệnh vẩy nến là bệnh viêm da với tốc độ luân chuyển tế bào biểu bì tăng nhanh. Bạch cầu trung tính di chuyển tuần hoàn đến các tổn thương vẩy nến và gây ra sự bùng nổ hô hấp, thoái hóa và hình thành bẫy ngoại bào bạch cầu trung tính, do đó góp phần vào cơ chế bệnh sinh miễn dịch của bệnh vẩy nến bao gồm mất cân bằng tế bào T, tăng sinh tế bào sừng, tạo mạch và hình thành tự kháng nguyên. Sự tích tụ bạch cầu trung tính trên da là một trong những đặc điểm mô học của bệnh vẩy nến. IL-36, được sản xuất và tiết ra ở mức độ cao, có vai trò chính trong bệnh vẩy nến ở da được cảm ứng bởi Imiquimod. IL-36 có thể thúc đẩy việc thêm bạch cầu trung tính. IL-36 và IL-1 hợp tác để điều trị bệnh vẩy nến hình thành viêm da mặc dù có sự điều hòa lẫn nhau. Hiệu quả của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột đã được thử nghiệm trên mô hình chuột được cảm ứng gây viêm mạn tính *trong cơ thể*: Mô hình chuột viêm da giống bệnh vẩy nến.

Lưng của những con chuột bị cạo lông và cả hai tai được bôi kem IMQ 5% (Aldara®) hàng ngày. Các vùng da được điều trị bằng IMQ được phủ bằng băng Tegaderm™ mờ đục vô trùng như phương tiện để bảo vệ vùng bôi ngoài da. Các phương pháp điều trị được thực hiện trên chuột qua đường trong màng bụng ba ngày một lần đối với tất cả các phân tử ngoại trừ Anakinra, được tiêm qua đường trong màng bụng mỗi ngày. Chuột được kiểm tra thể chất hàng ngày và điểm số PASI (Khu vực bệnh vẩy nến và Chỉ số mức độ nghiêm trọng) được áp dụng như sau: Ban đỏ (kích ứng/đỏ da) và hình thành vảy (vảy) (điểm 1-4)/Thang điểm mức độ nghiêm trọng và mở rộng quy mô (điểm 1-4).

Vào ngày thứ 10, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột được cảm ứng đã làm giảm đáng kể tỷ lệ nhân rộng và điểm tổn thương (giá trị $p = 0,0141$ ở mức 1 mg và giá

trị $p=0,0025$ ở mức 250ug) trong mô hình Viêm da giống bệnh vảy nến (Hình 16) so với nhóm đối chứng.

Thử nghiệm so sánh nhiều lần của Dunnett	Khác biệt trung bình,	95,00% CI của khác biệt,	Có ý nghĩa?	Tóm tắt	Giá trị P đã điều chỉnh
IMQ được xử lý + PBS so với Chuột không được xử lý	2,667	1,811 đến 3,522	Có	****	<0,0001
IMQ được xử lý + PBS so với Đối chứng isotyp 3 ở mức 1 mg	1	0,3015 đến 1,699	Có	**	0,0025
IMQ được xử lý + PBS so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 1 mg	0,8333	0,1348 đến 1,532	Có	*	0,0141
IMQ được xử lý + PBS so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 250ug	1	0,3015 đến 1,699	Có	**	0,0025
IMQ được điều trị + PBS so với Anakinra (chất đối vận thụ thể IL-1)	0,6667	-0,03187 đến 1,365	Không	ns	0,0661
IMQ được xử lý + PBS so với mL36Ra (mL1F5)	0,1667	-0,5319 đến 0,8652	Không	ns	0,9704

Bảng 14: Phân tích thống kê Hình 16

Dữ liệu mô học đã chứng minh rằng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột có thể ức chế sự hình thành các chốt rete (giá trị $p=0,0001$), còn được gọi là *bệnh gai đen*, trong mô hình Viêm da giống bệnh vảy nến (Hình 17 và 18) so với nhóm đối chứng và nhóm isotyp. Giảm đáng kể sự hình thành bệnh gai đen với mL36Ra (giá trị $p=0,0006$) nhưng không giảm với Anakinra (giá trị $p=0,0702$).

Hình ảnh mô học được thực hiện trên da lưng chuột được thể hiện trong Hình 18. Trong thời gian ngắn, chuột được điều trị bằng Imiquimod và PBS (A), Đối chứng isotyp_3 (B), Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 1 mg (C), Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 250ug (D), Anakinra (E), mL36Ra (F) hoặc chuột không được điều trị (G). Sử dụng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột đã ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong mô hình chuột bị viêm da giống bệnh vảy nến.

Dữ liệu từ nghiên cứu IMQ_s2.

Thử nghiệm so sánh nhiều lần Dunnett	Khác biệt trung bình,	95,00% CI của khác biệt,	Có ý nghĩa?	Tóm tắt	Giá trị P đã điều chỉnh
IMQ được xử lý + PBS so với Chuột không được xử lý	10,97	5,411 đến 16,52	Có	****	<0,0001
IMQ được xử lý + PBS so với Đối chứng isotyp_3 ở mức 1 mg	5,6	1,064 đến 10,14	Có	*	0,0106
IMQ được xử lý + PBS so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 1 mg	8,283	3,747 đến 12,82	Có	***	0,0001
IMQ được xử lý + PBS so với Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ở mức 250ug	6,467	1,930 đến 11,00	Có	**	0,0027

IMQ được điều trị + PBS so với Anakinra (chất đối vận thụ thể IL-1)	4,283	-0,2530 đến 8,820	Không	ns	0,0702
IMQ được xử lý + PBS so với mL36Ra (mL1F5)	7,4	2,864 đến 11,94	Có	***	0,0006

Bảng 15 Phân tích thống kê Hình 17

Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong mô hình chuột bị viêm da giống bệnh vẩy nến. Những dữ liệu này xác nhận rằng so với các điểm chuẩn, IL-1RAP hướng đích cho phép chặn các con đường truyền tín hiệu IL-36, IL-33 và IL1 *trong cơ thể*.

Ví dụ 8: Đặc tính sinh học trong phòng thí nghiệm của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế giải phóng cytokin trong xét nghiệm tái kích thích máu toàn phần khi kích thích IL-1 theo cách phụ thuộc vào liều

Mặc dù các xét nghiệm trước đây cho phép đánh giá khả năng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người ức chế kết hợp các con đường được điều hòa bởi IL1RAP trong bối cảnh xét nghiệm máu toàn phần, IL-1 α hoặc IL-1 β được phân tách ở đây được sử dụng để đánh giá khả năng Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người để ức chế các con đường được kích thích bởi IL-1 và xác định nồng độ ức chế hiệu quả tối đa một nửa (hoặc EC50).

Vật liệu và phương pháp

Máu ở người mới thu lại từ các thể cho khỏe mạnh (ống Citrat) được phân phối trong các ống 15 ml và được ủ trước chỉ với một trong hai môi trường (RPMI), pha loãng nối tiếp Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người trong khoảng từ 25 ug/ml đến 0,00032 pg/mL, hoặc Đối chứng isotyp_4 (25 ug/ml) trong 30 phút trước khi kích thích với 5 ng/ml IL-1 α hoặc 5 ng/ml IL-1 β đến thể tích cuối cùng là 0,6 ml. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, CO2 5%, chất nổi trên bề mặt được thu lại. Việc sản xuất các cytokin và chemokin khác nhau trong chất nổi trên bề mặt dịch nuôi cấy được đo bằng Luminex bằng cách sử dụng nhiều bộ ProcartaPlex (ThermoFisher Scientific, bộ 9 lớp) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Định lượng chất phân tích đã được chuẩn hóa thành chỉ số kích thích:

Chỉ số kích thích (Mẫu), [SI] _X = ([Giải phóng cytokin] _X (Mẫu)) / ([Giải phóng cytokin trung bình] _X (Máu không được kích thích))

Chỉ số Kích thích (Máu được kích thích/Máu không được kích thích) dưới 3 (gấp 3 lần so với đường cơ sở) đã bị loại trừ để xác định phần trăm ức chế.

$\% \text{ ức chế (Mẫu)} = (1 - ([SI]_{\text{X (Mẫu)}} - [SI]_{\text{X Trung bình (Máu không được kích thích)}}) / ([SI]_{\text{X trung bình (Được kích thích)}} - [SI]_{\text{X trung bình (Máu không được kích thích)}})) \times 100$

Trong đó “X” là cytokin/chemokin được xem xét, “Được kích thích” tương ứng với các giá trị thu được cho máu toàn phần được ủ trước với Đối chứng isotyp sau đó Cytokin X và “Máu không được kích thích” tương ứng với các giá trị thu được cho máu toàn phần mà không có kích thích bất kỳ. Mỗi phép tính là thể cho và cytokin cụ thể.

Một nửa giá trị nồng độ hiệu quả tối đa (EC50) được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các điều kiện kích thích đầy đủ (Chỉ số kích thích > 3) và các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$ và Span > 50%) được đưa vào bảng tóm tắt.

Ba thí nghiệm độc lập đã được thực hiện với tổng số 15 thể cho được thử nghiệm. Bảng B trong hình 18 mô tả số lượng thể cho có đủ điều kiện kích thích (Chỉ số kích thích > 3).

Các kết quả được mô tả trong hình 18 và bảng 16 thể hiện Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người thể hiện sự ức chế phụ thuộc nồng độ IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-1 α và MIP-1 β giải phóng sau khi kích thích với IL-1 α hoặc IL-1 β trong xét nghiệm tái kích thích máu toàn phần ở người với EC50 trung bình trong phạm vi nano cho cả IL-1 α và IL-1 β .

KÍCH THÍCH	ĐQC	N bao gồm các thể cho	EC ₅₀ có nghĩa +/- SD
IL-1alpha	IL-6	11/13	9,5 +/- 8,6 nM
IL-1alpha	IL-8	4/11	14,2 +/- 7 nM
IL-1alpha	MCP-1	5/10	11,1 +/- 13,5 nM
IL-1alpha	MIP-1alpha	6/8	15 +/- 14 nM
IL-1alpha	MIP-1beta	7/10	89 +/- 153,8 nM
IL-1beta	IL-6	12/15	8,8 +/- 7,7 nM
IL-1beta	IL-8	9/15	24,7 +/- 22,3 nM
IL-1beta	MCP-1	4/10	17,7 +/- 21,1 nM
IL-1beta	MIP-1alpha	8/10	16 +/- 23,8 nM
IL-1beta	MIP-1beta	6/11	53,3 +/- 49,9 nM

Bảng 16

Liều lượng đáp ứng của Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người hoặc liều tối đa của Đối chứng isotyp_4 được ủ trong máu toàn phần ở người với 5 ng/ml IL-1 α hoặc 5 ng/ml IL-1 β .

Bảng 16 hiển thị EC50 của sự ức chế đối với tất cả được bao gồm các thể cho cho mỗi lần kích thích và mỗi lần đọc. Các giá trị ECx được trích xuất từ hồi quy sigmoid phi tuyến tính. Các điều kiện kích thích đầy đủ (Chỉ số kích thích > 3) và các đường cong thể hiện mức độ phù hợp vừa đủ ($R^2 > 0,7$ và Span > 50%) được đưa vào bảng tóm tắt. Ba thí nghiệm độc lập đã được thực hiện với tổng số 15 thể cho được thử nghiệm. X/Y đại diện cho các thể cho X trong đó Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người thể hiện sự ức chế giữa các thể cho Y phản ứng với kích thích IL-1.

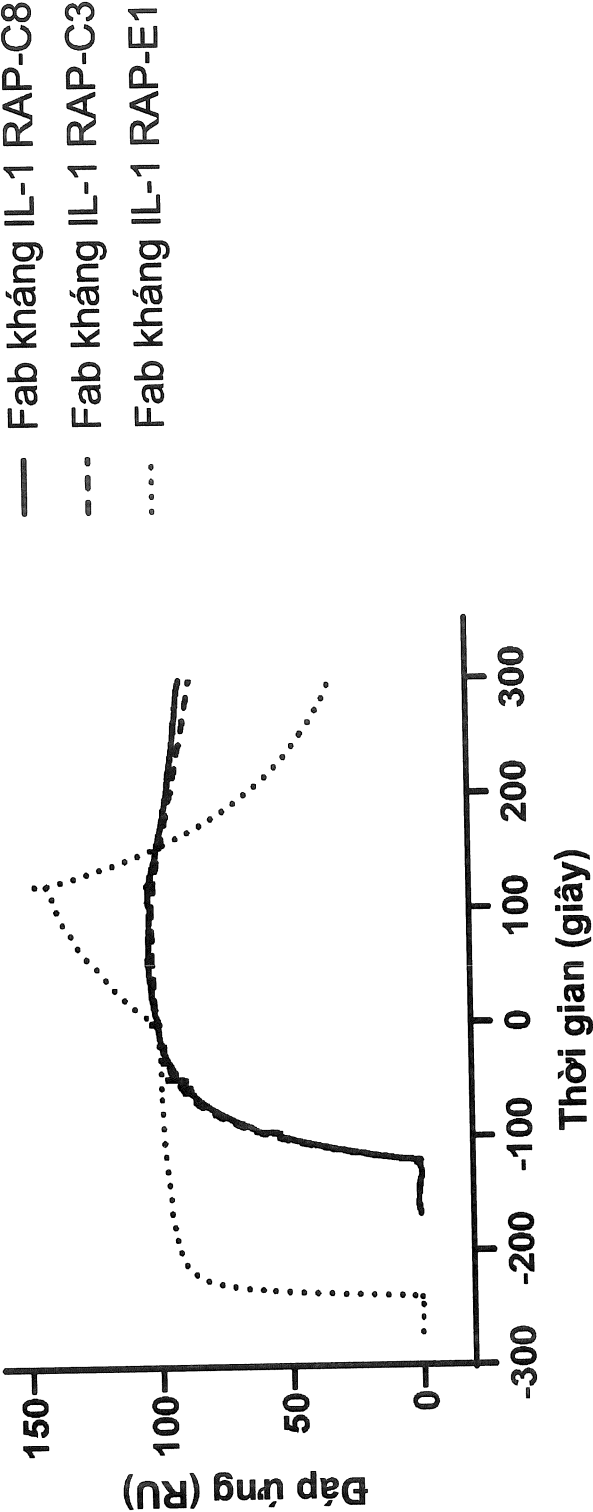
Trong các rối loạn tự miễn dịch, Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người có thể điều chỉnh giảm phản ứng viêm do IL-1 thúc đẩy, đáp ứng này khuếch đại quá trình sản xuất cytokin gây bệnh và làm trầm trọng thêm sinh lý bệnh.

Dữ liệu cũng được tạo bằng cách sử dụng IL-12/IL-33 và IL-36 α /IL-36/IL β -36 γ làm chất kích thích và thể hiện sự điều biến phụ thuộc vào liều lượng của việc giải phóng cytokin và chemokin (dữ liệu không được thể hiện).

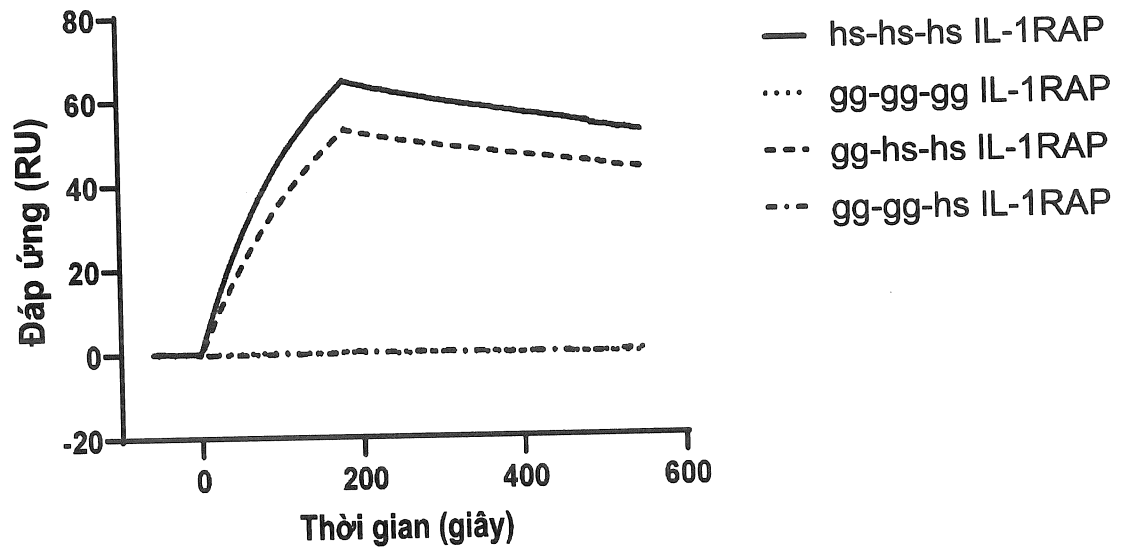
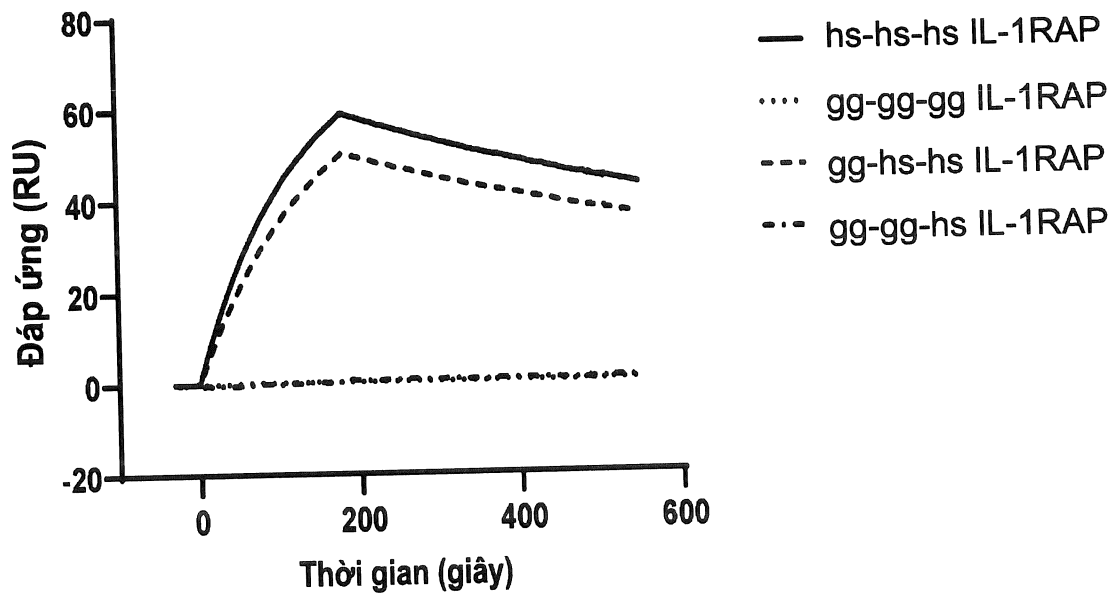
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng IL1RAP bao gồm vùng CDR chuỗi nặng thứ nhất (CDR-H1), vùng CDR chuỗi nặng thứ hai (CDR-H2), và vùng CDR chuỗi nặng thứ ba (CDR-H3), trong đó:
 - (a) CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 128;
 - (b) CDR-H2 bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 188; và
 - (c) CDR-H3 bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 248, và trong đó kháng thể kháng IL1RAP đã nêu bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 268.
2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 58.
3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này liên kết với IL1RAP ở người với ái lực liên kết nằm trong khoảng từ 1×10^{-8} M đến 10^{-13} M.
4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể đã nêu làm giảm tín hiệu được kích thích IL-1, tín hiệu được kích thích IL-33, và/hoặc tín hiệu được kích thích IL-36 ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99% hoặc 100%; trong đó sự giảm tín hiệu được đo bằng xét nghiệm ngăn chặn dựa trên tế bào.
5. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể đã nêu phản ứng chéo với polypeptit IL1RAP ở khỉ cynomolgus có SỐ ID TRÌNH TỰ: 2.
6. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể đã nêu phản ứng chéo với polypeptit IL1RAP ở chuột có SỐ ID TRÌNH TỰ: 261.
7. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể đã nêu là kháng thể có chiều dài đầy đủ của lớp IgG và cụ thể là trong đó kháng thể lớp IgG này có isotyp được chọn từ IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4.
8. Kháng thể theo điểm 2, trong đó kháng thể đã nêu là kháng thể đa đặc hiệu.
9. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này liên kết đặc hiệu với một hoặc nhiều gốc axit amin trong miền 2 của IL1RAP.
10. Kháng thể theo điểm 3, trong đó ái lực liên kết được đo bằng hằng số phân ly cân bằng (KD) với polypeptit IL1RAP ở người có SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 hoặc 6
11. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm 1 và chất mang dược dụng.

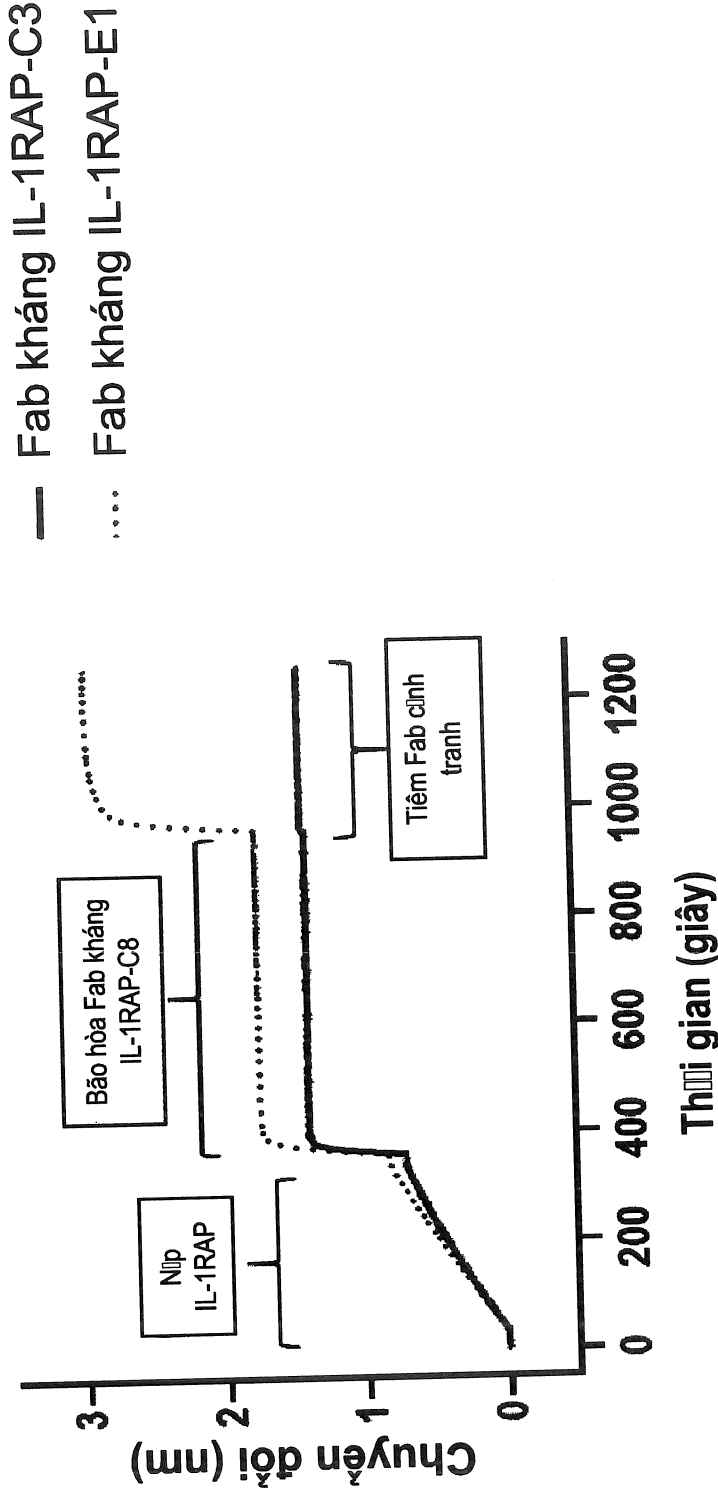
HÌNH 1



2/29

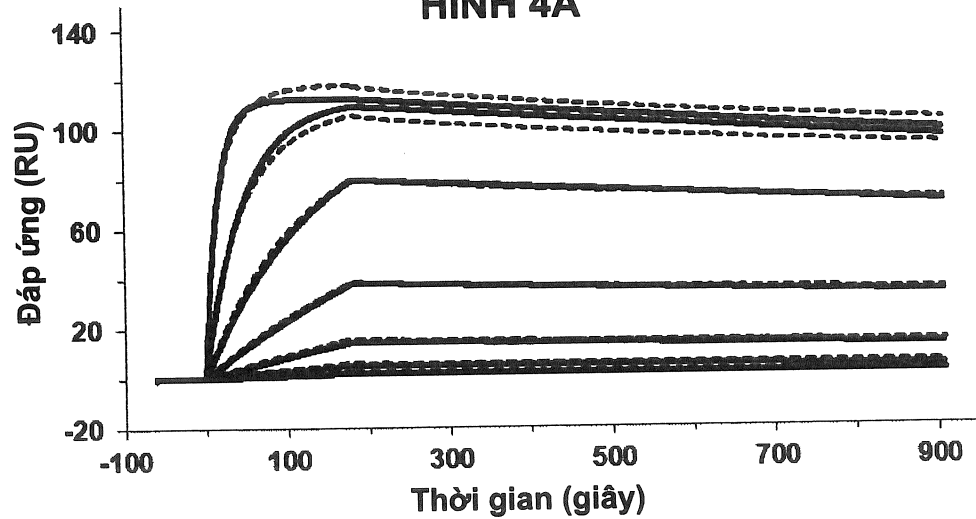
HÌNH 2A**HÌNH 2B**

HÌNH 3



4/29

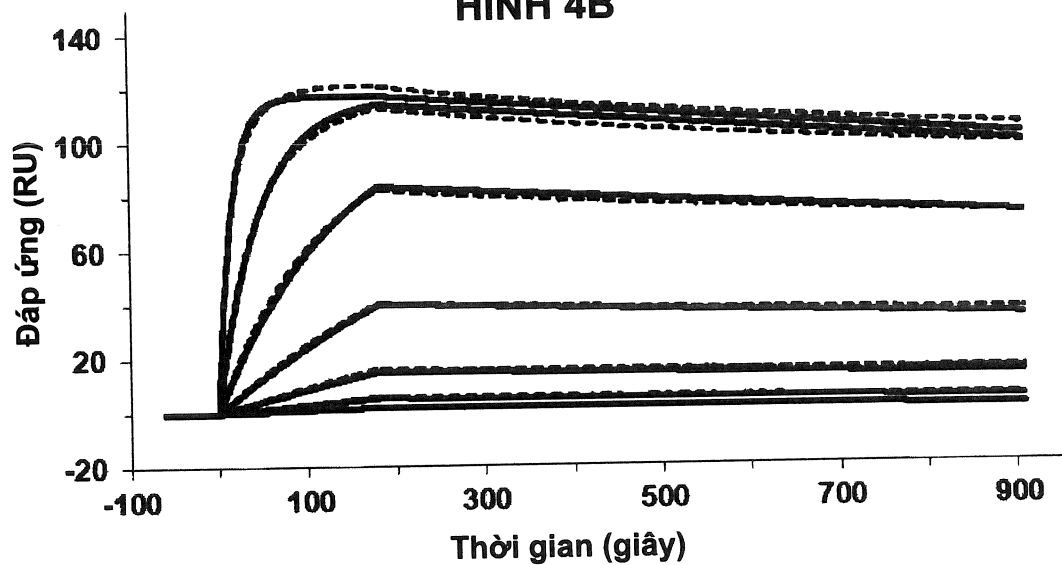
HÌNH 4A



K_a (1/Ms): $6,33E+5$
 K_D (M): $2,67E-10$

K_d (1/s): $1,69E-4$

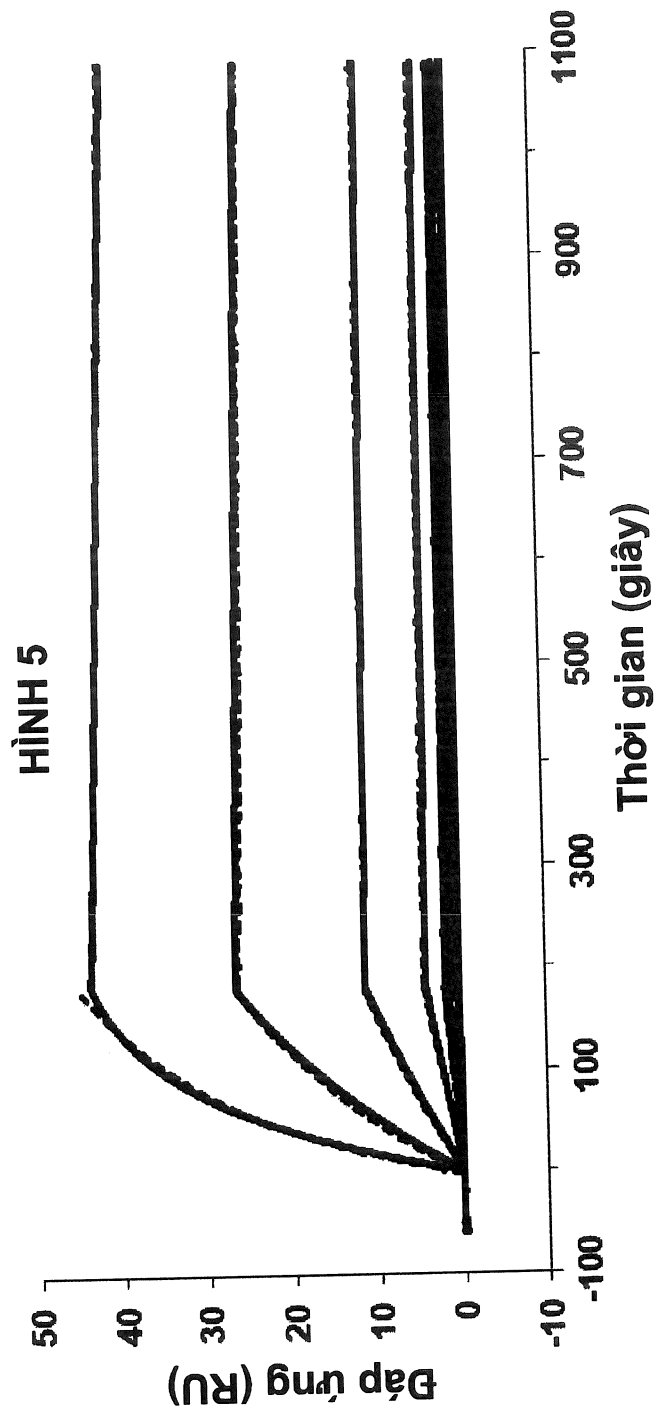
HÌNH 4B



K_a (1/Ms): $6,38E+5$
 K_D (M): $3,07E-10$

K_d (1/s): $1,96E-4$

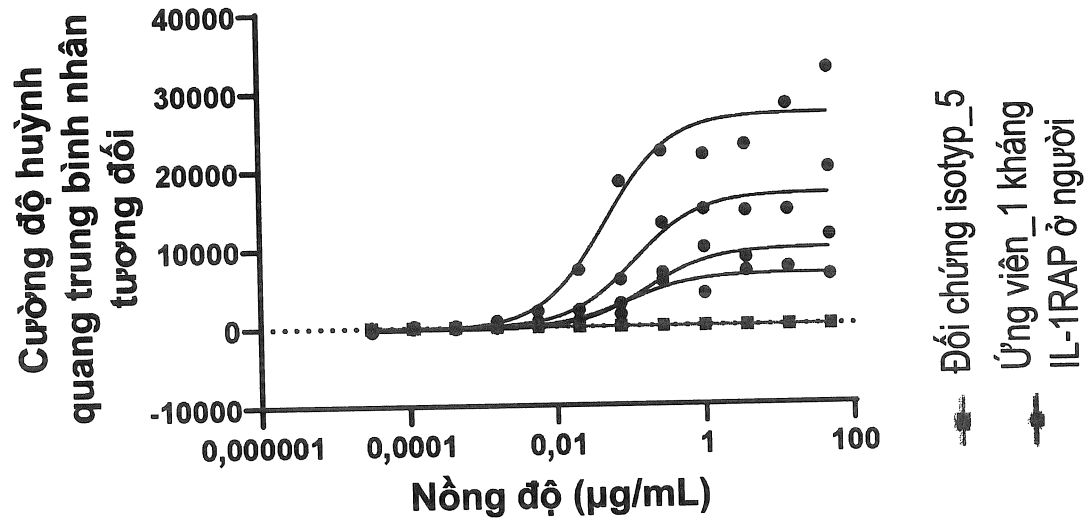
5/29

 $K_d (1/s): 7.60E-5$ $K_a (1/Ms): 1.37E+5$ $KD (M): 5.57E-10$

6/29

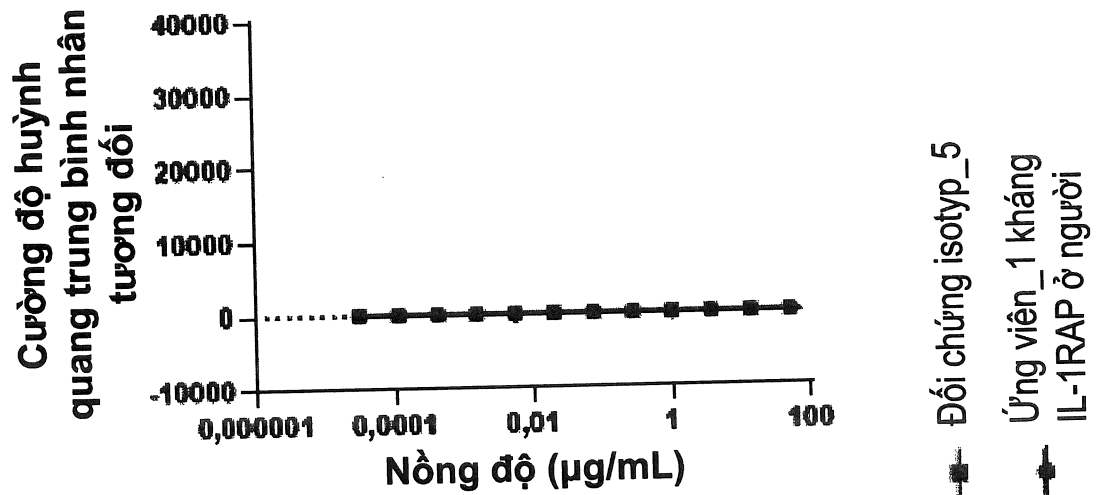
HÌNH 6A

HaCaT Kiểu dại



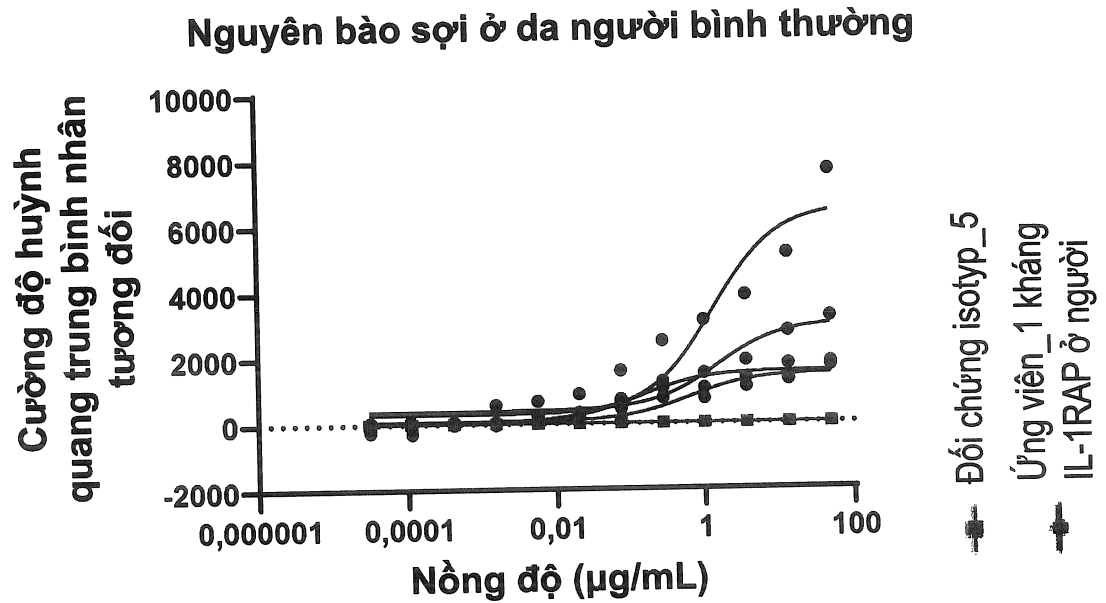
HÌNH 6B

HaCaT IL-1RAP KO

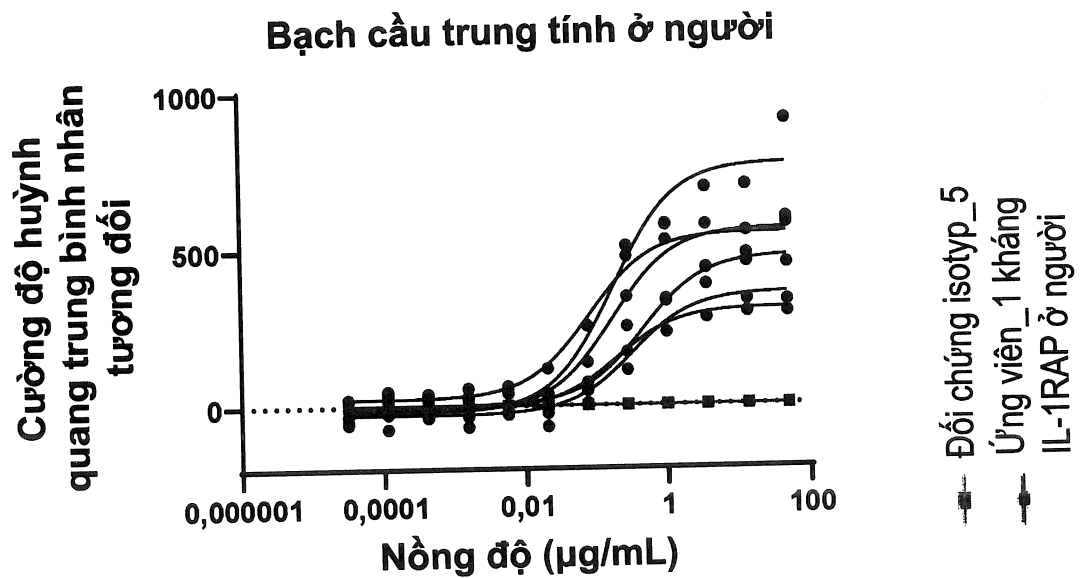


7/29

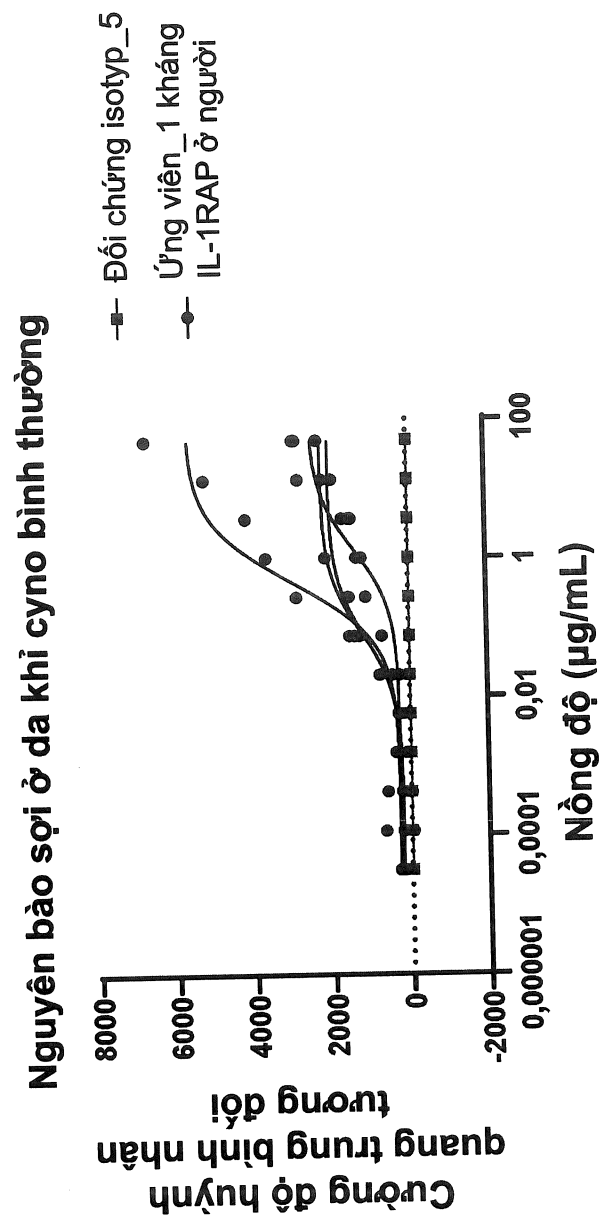
HÌNH 6C



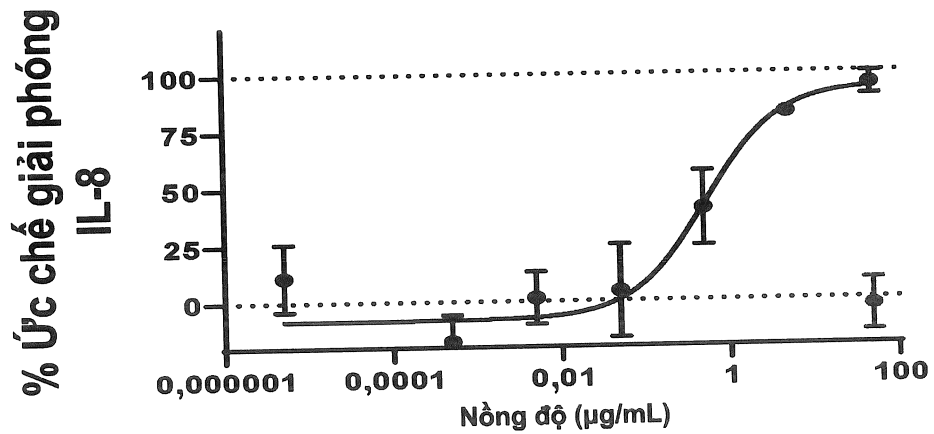
HÌNH 6D



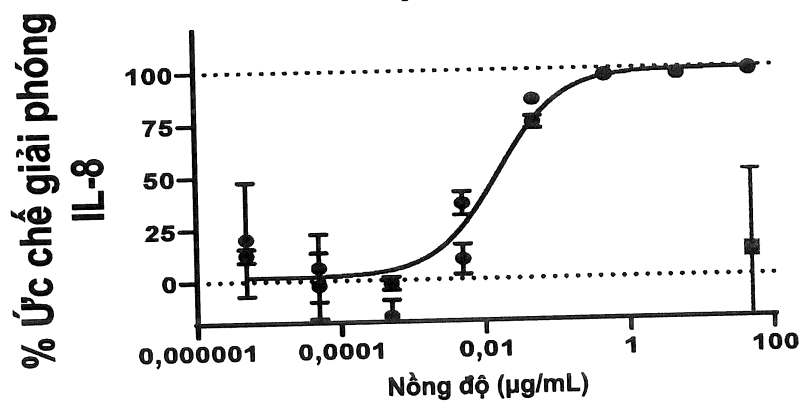
HÌNH 6E



9/29

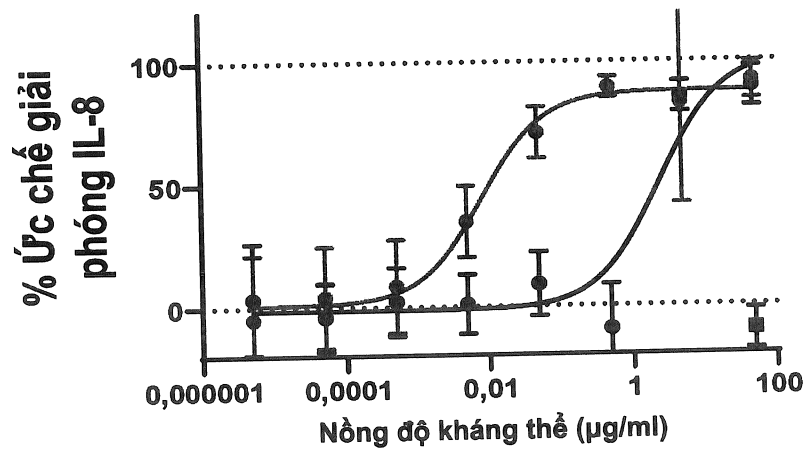
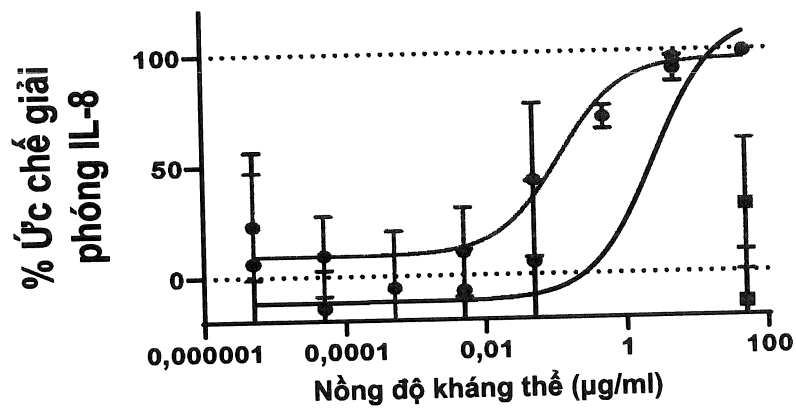
HÌNH 7A**Kích thích IL-1 β kiểu đại
HaCaT**

- Đối chứng isotyp_5
 ● Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

HÌNH 7B**Kích thích IL-36 γ kiểu
đại HaCaT**

- Đối chứng isotyp_5
 ● Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

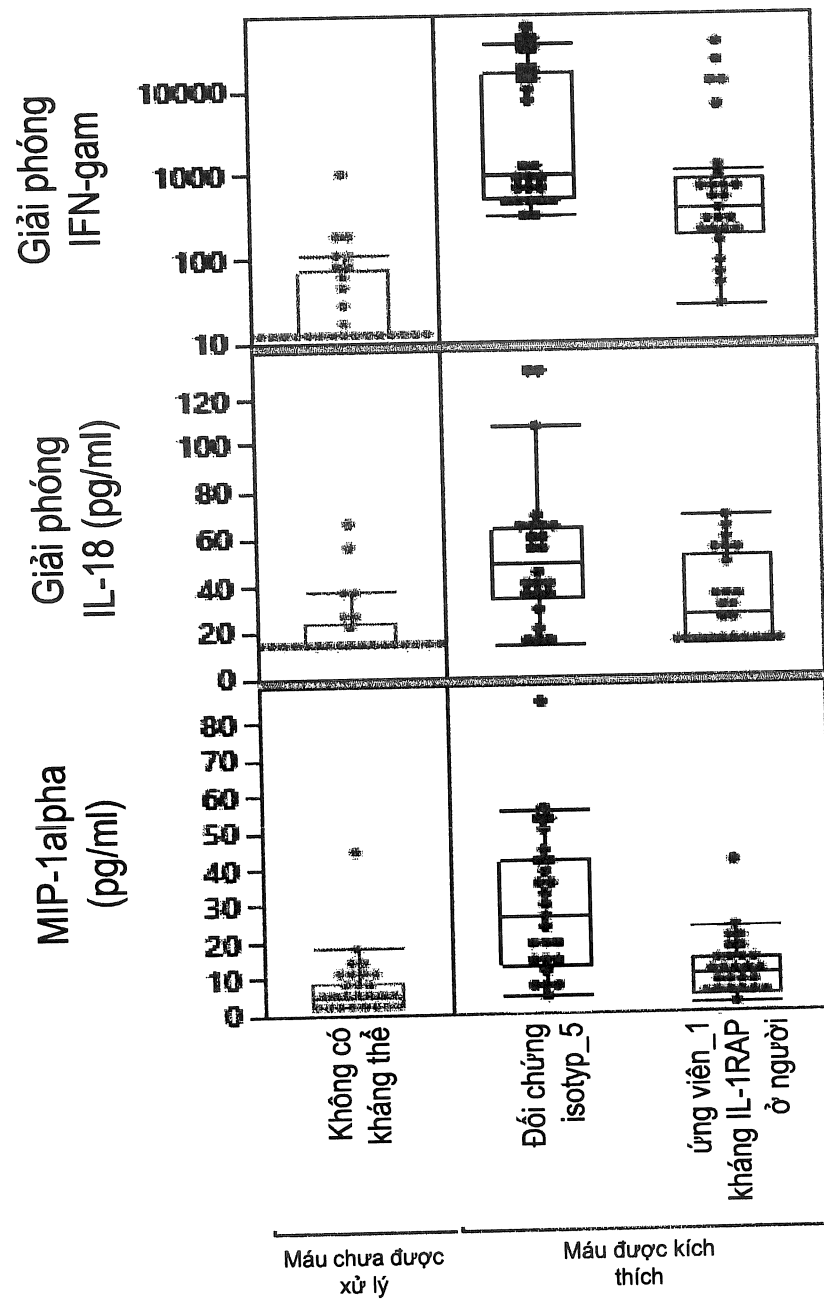
10/29

HÌNH 8A**Kích thích IL-1 β giải
phóng IL-8****HÌNH 8B****IL-12/IL-33 stimulation
IFN γ release**

- Đối chứng isotyp_4
- Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người
- Đối chứng isotyp_4 + sIL-1 RAP
- Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người + sIL-1RAP

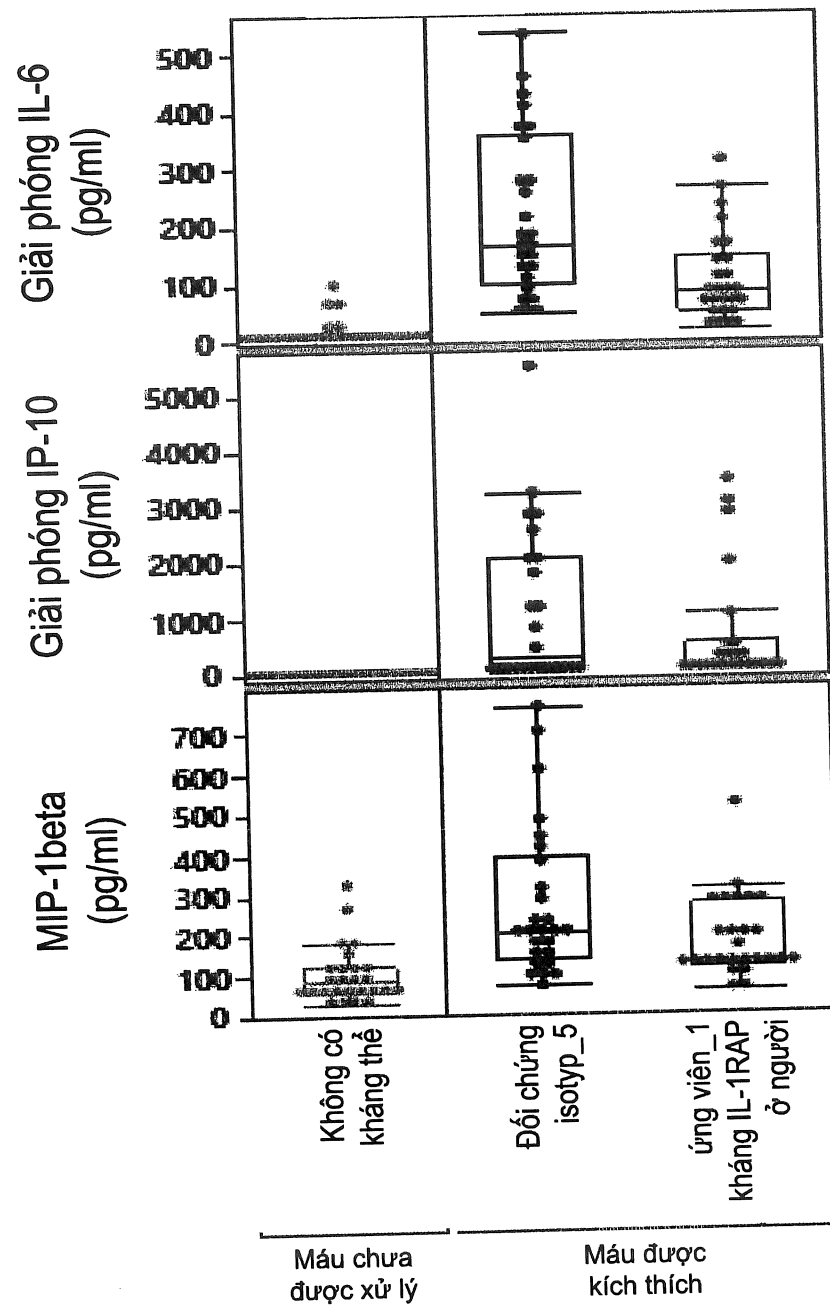
11/29

HÌNH 9A

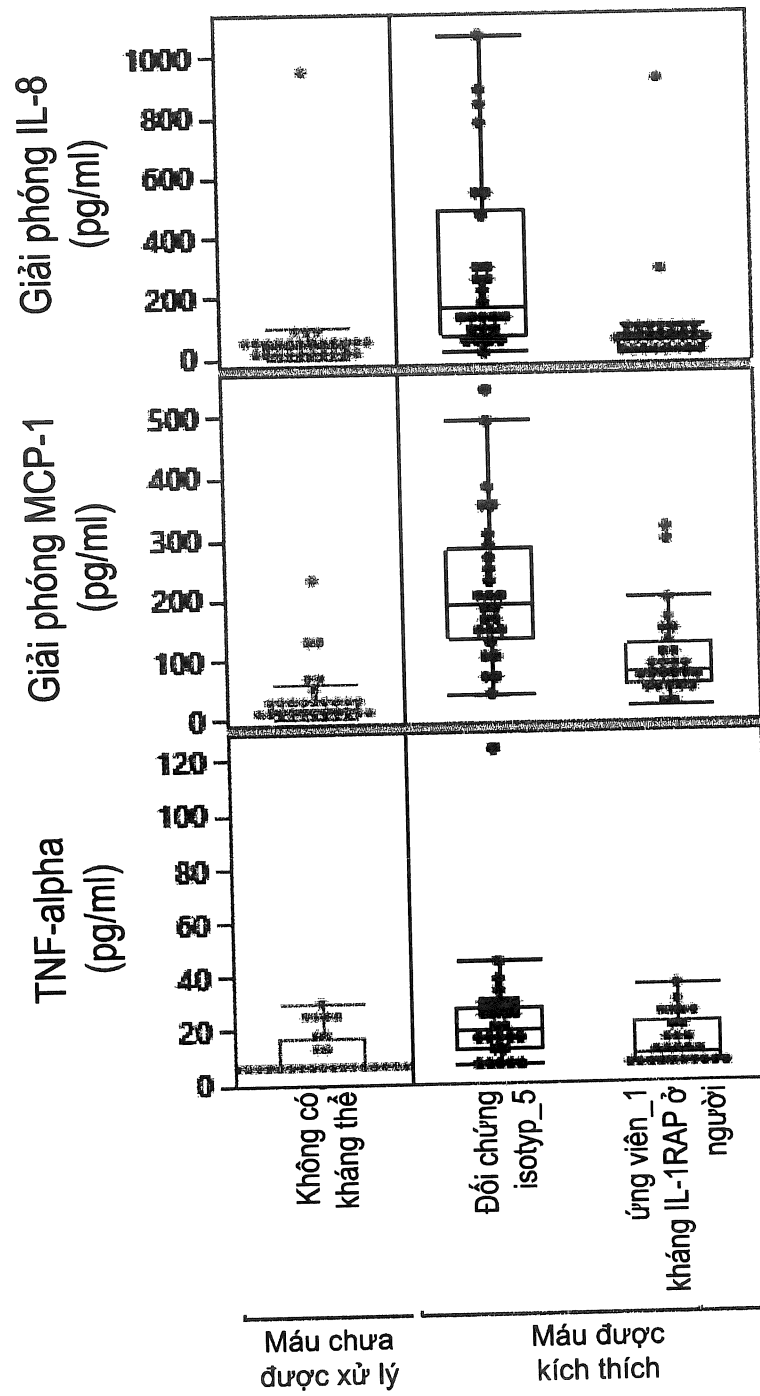


12/29

HÌNH 9B

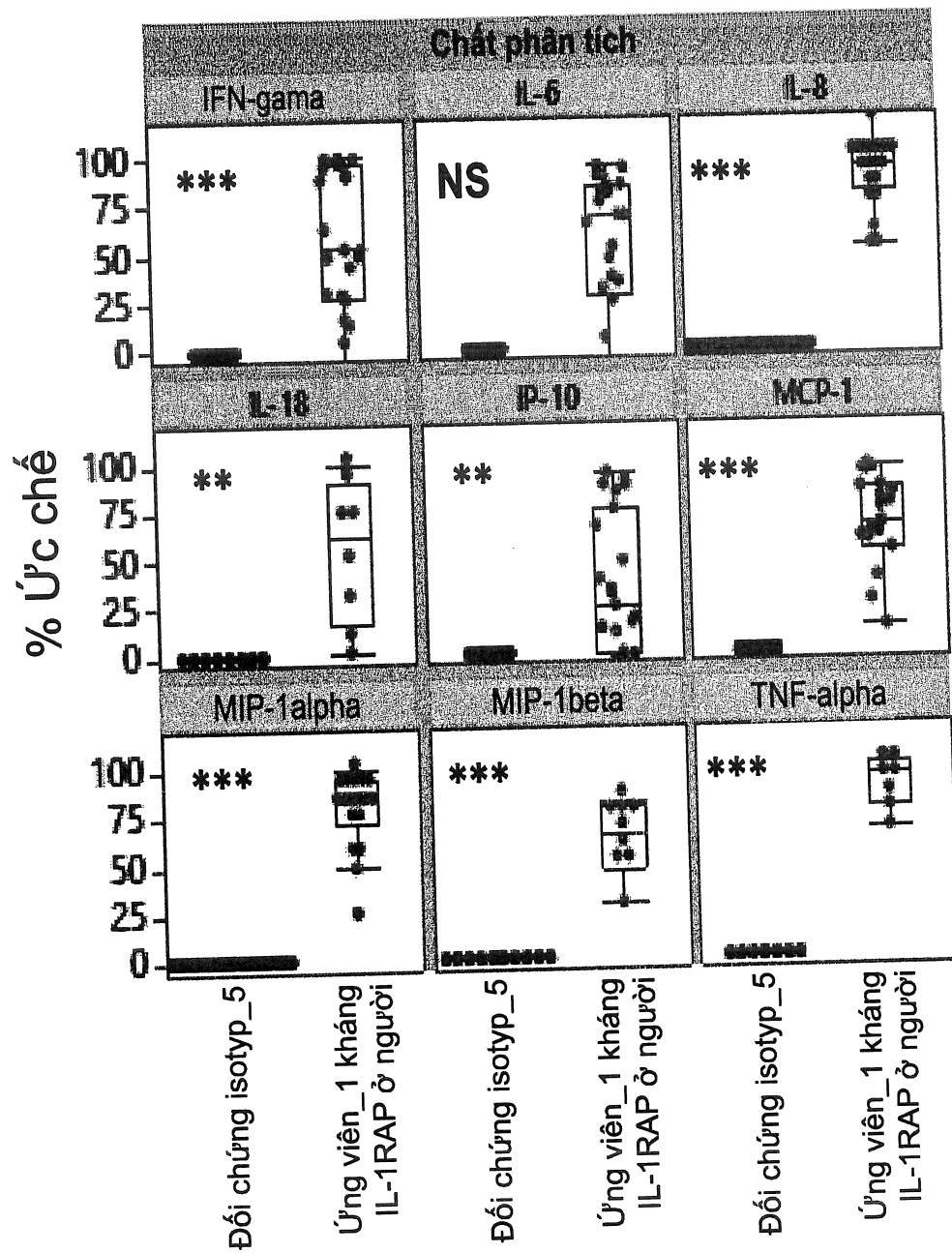


HÌNH 9C

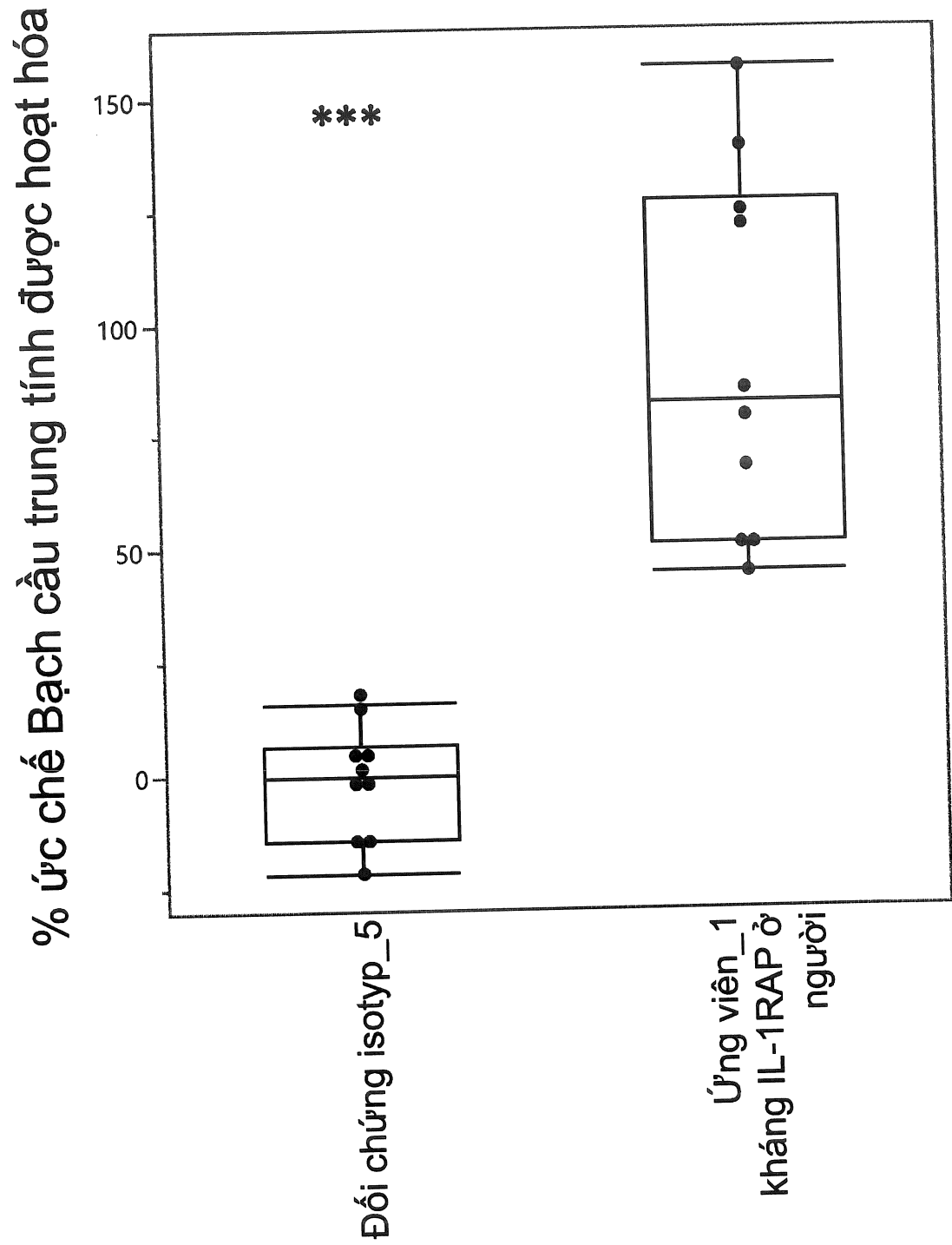


14/29

HÌNH 9D



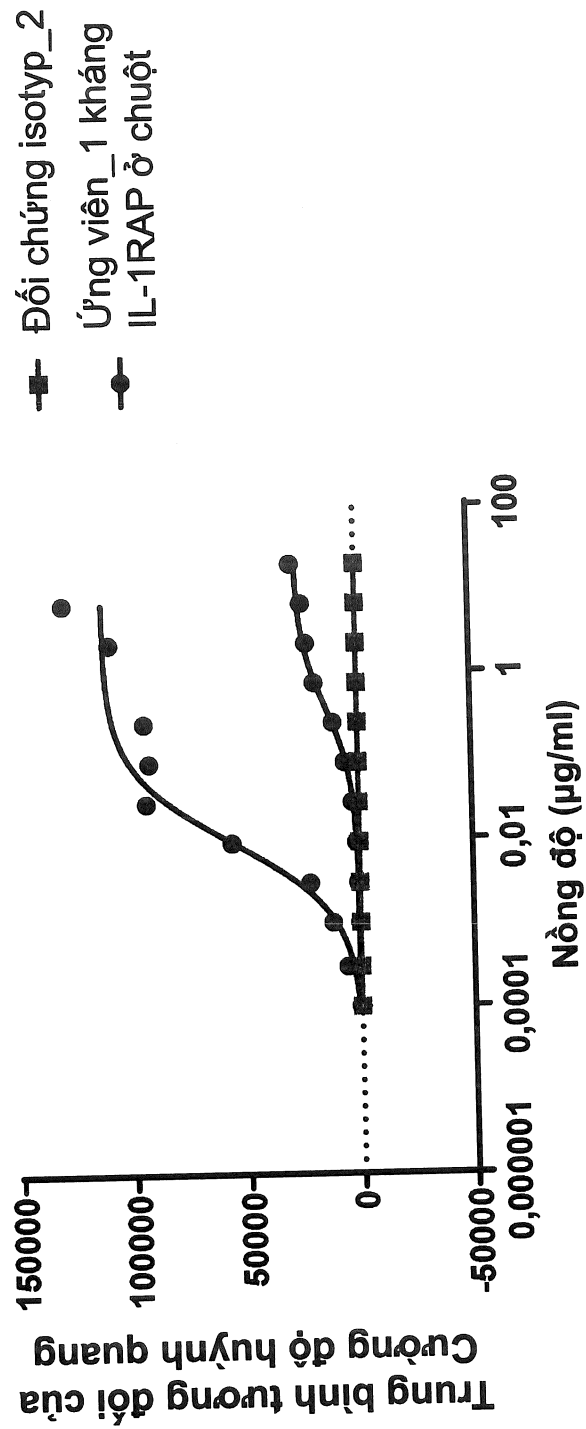
HÌNH 10



16/29

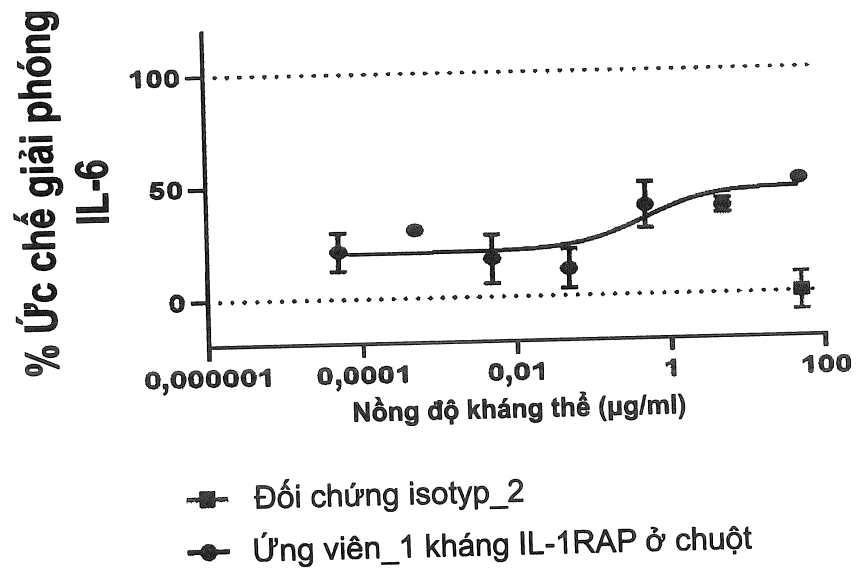
HÌNH 11

NIH-3T3

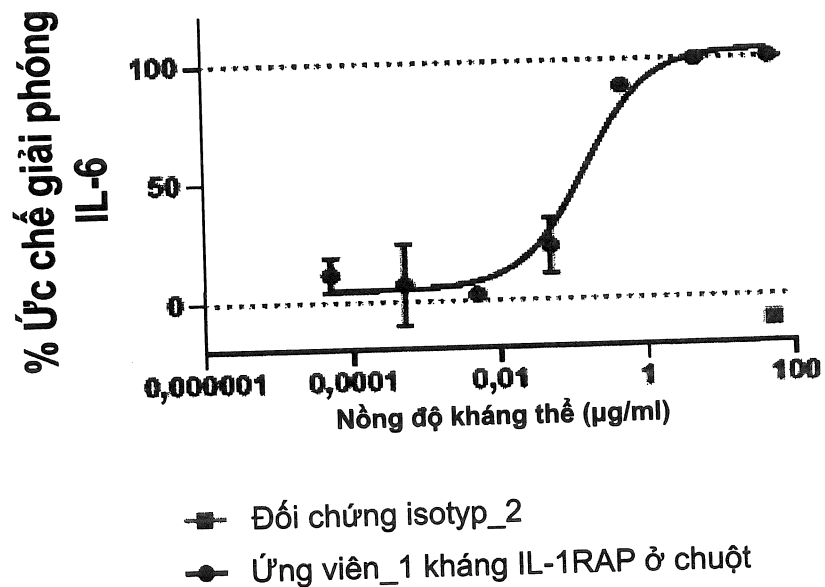


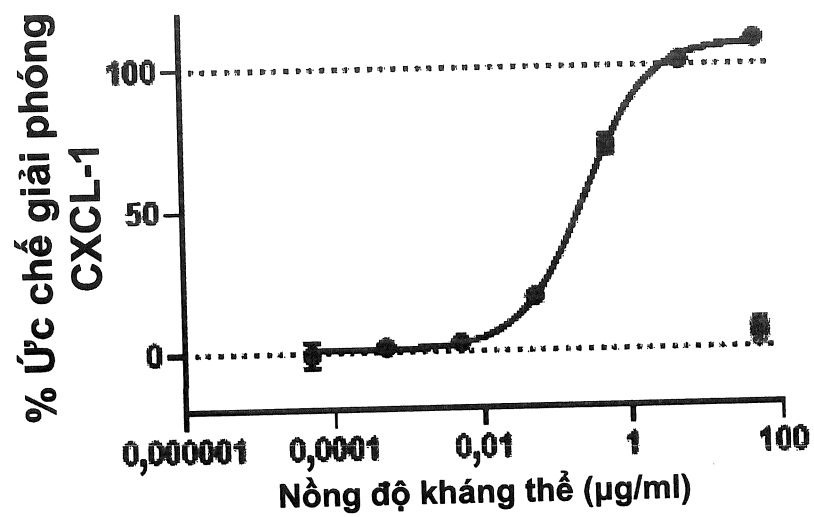
17/29

HÌNH 12A
Kích thích mIL-1b giải
phóng mIL-6



HÌNH 12B
Kích thích hIL-33 giải
phóng mIL-6

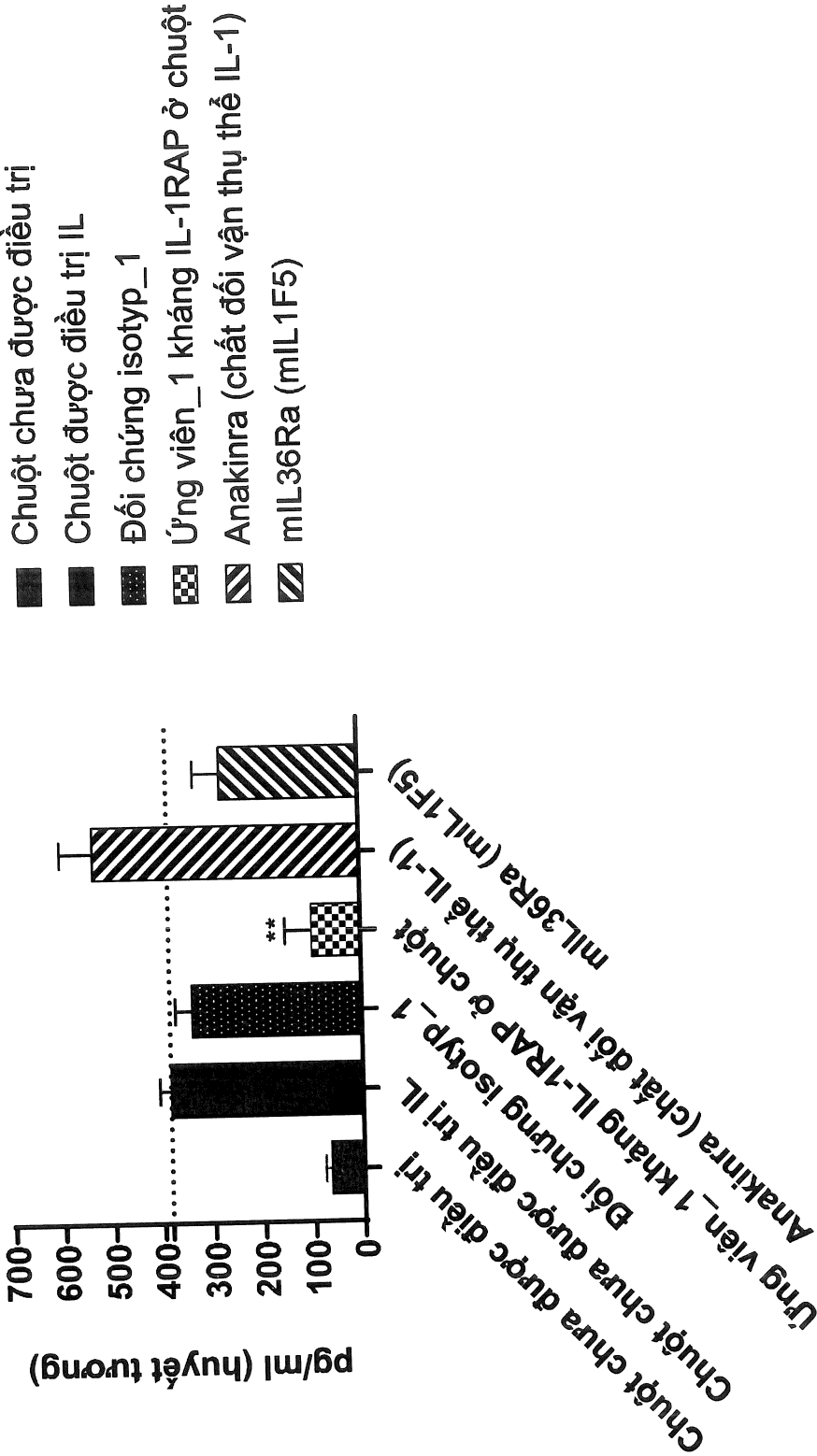


HÌNH 12C**Kích thích mIL-36s giải phóng
CXCL-1/GRO-a**

- Đối chứng isotyp_2
- Ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột

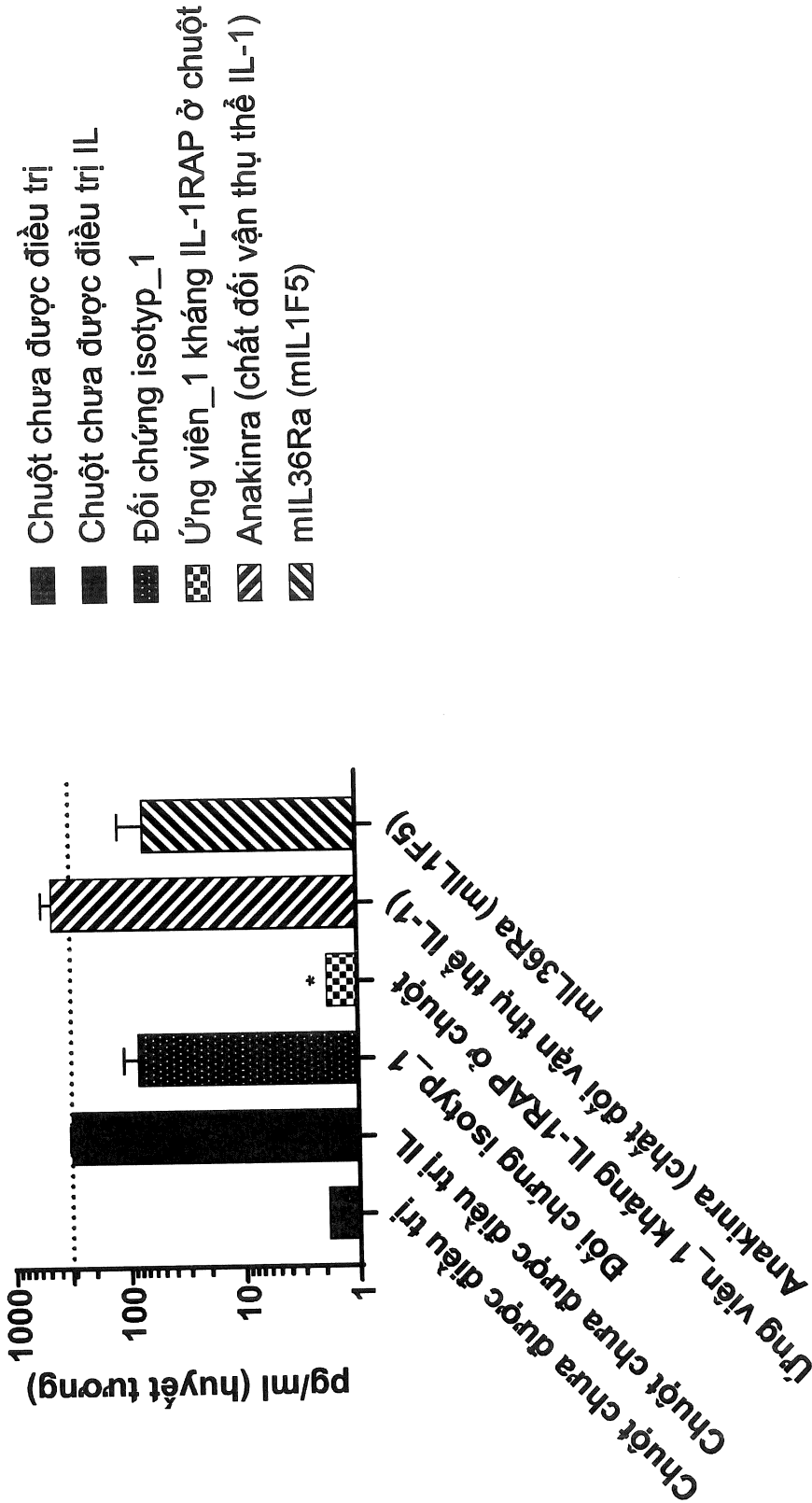
HÌNH 13

Giải phóng IL-5 (T=24 giờ)

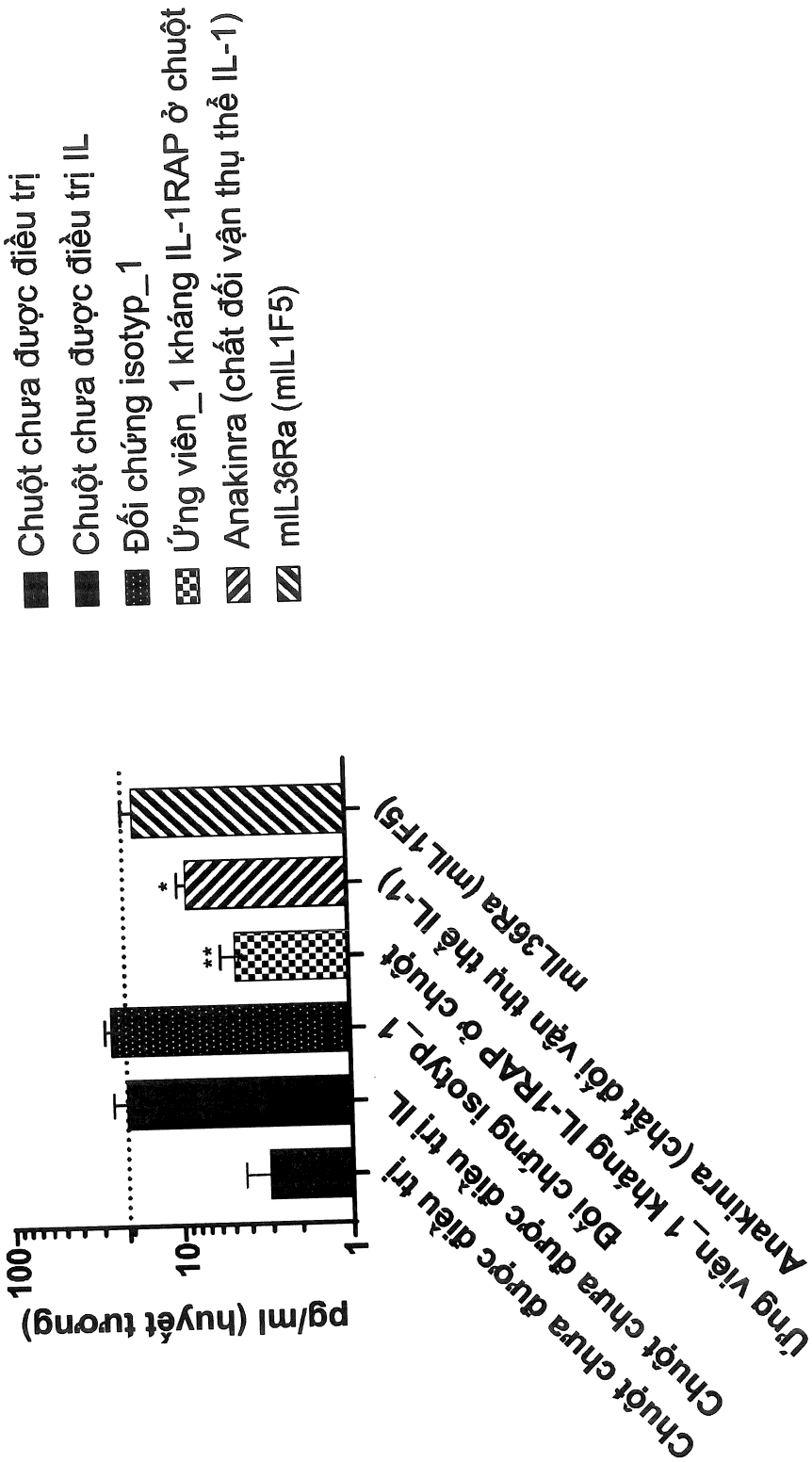


HÌNH 14

Giải phóng IL-5 (T=72 giờ)

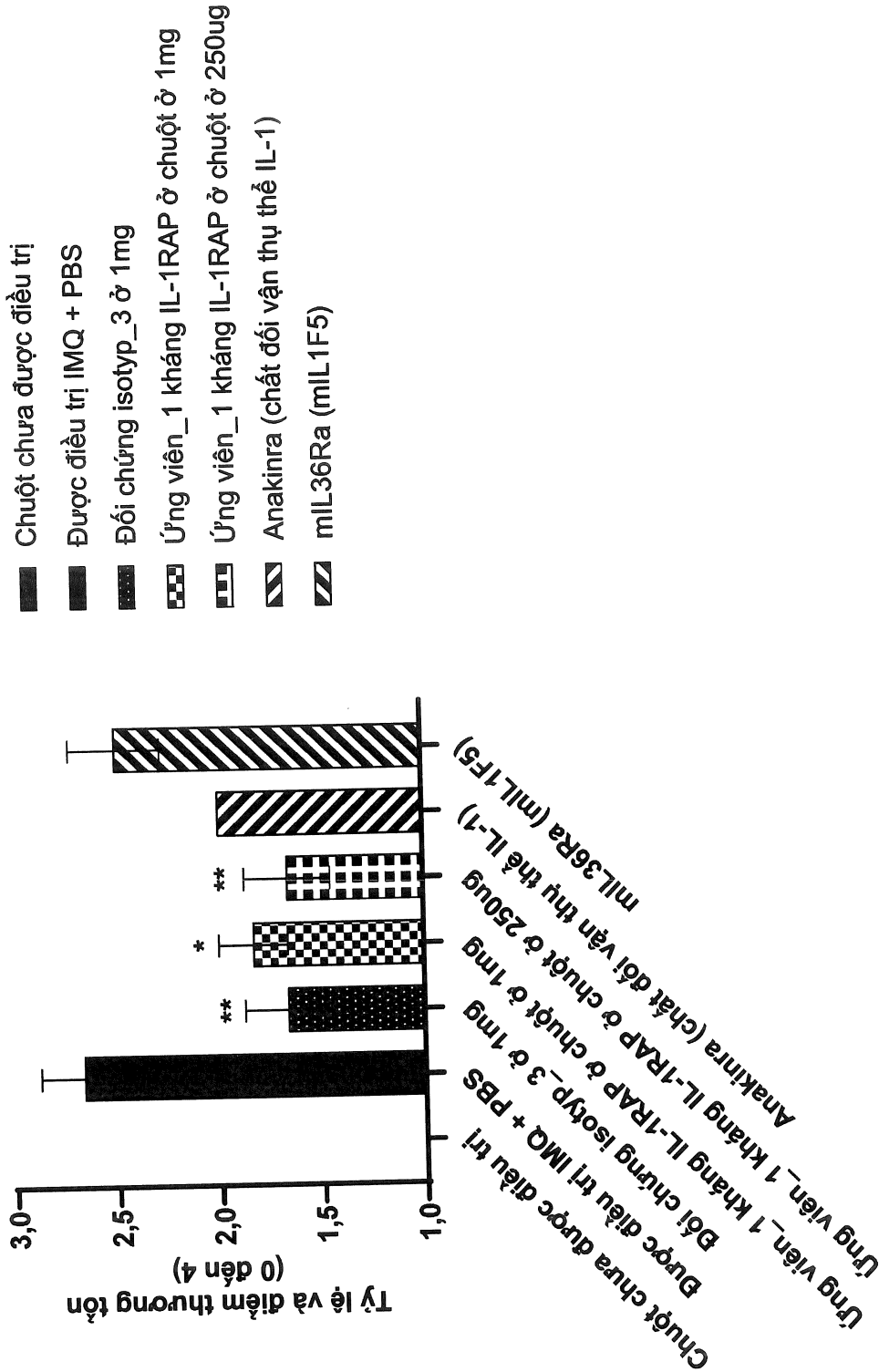


HÌNH 15
Giải phóng Gro-alpha (T=72 giờ)



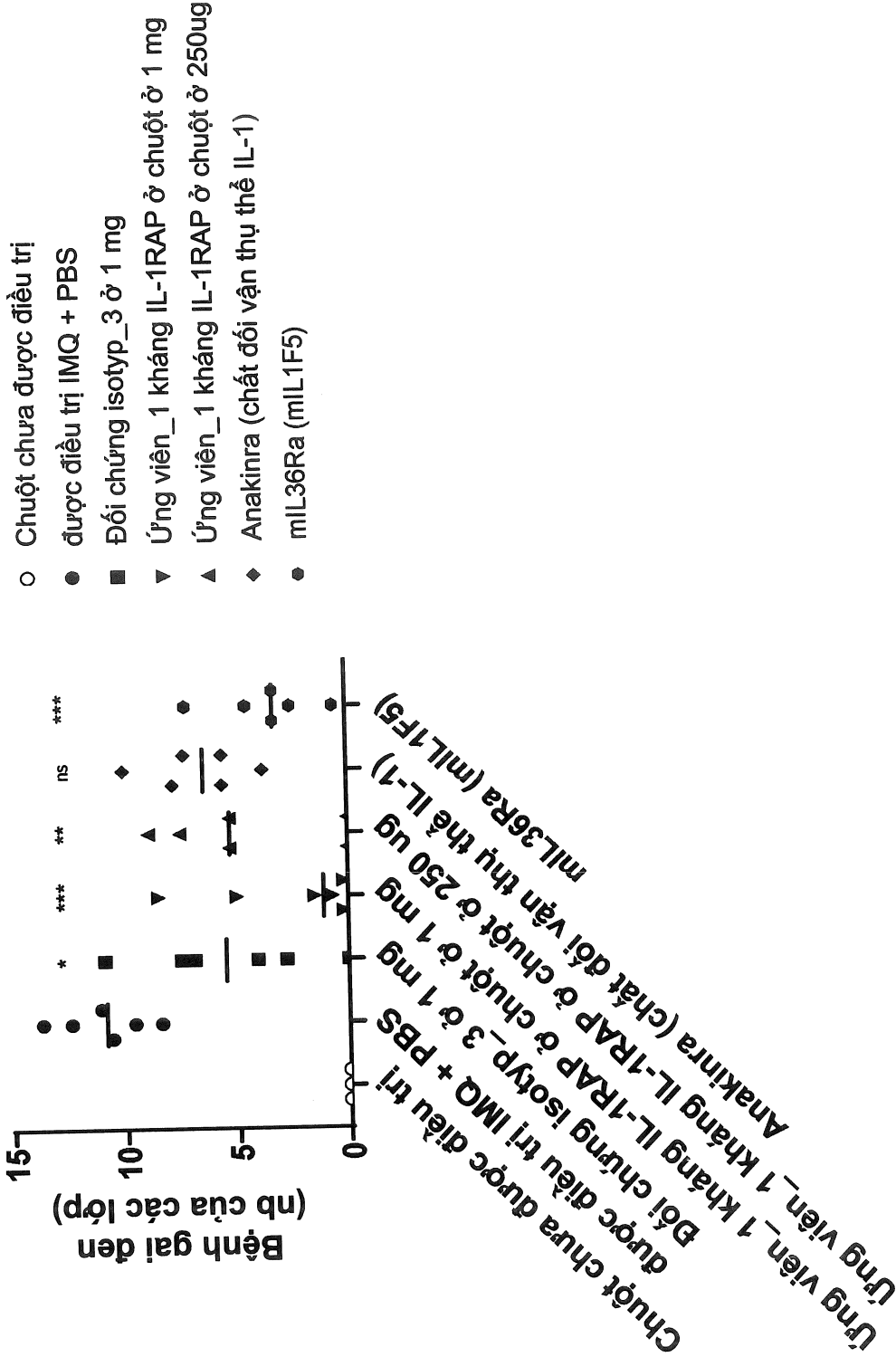
HÌNH 16

Tỷ lệ và điểm thương tổn ở ngày 10

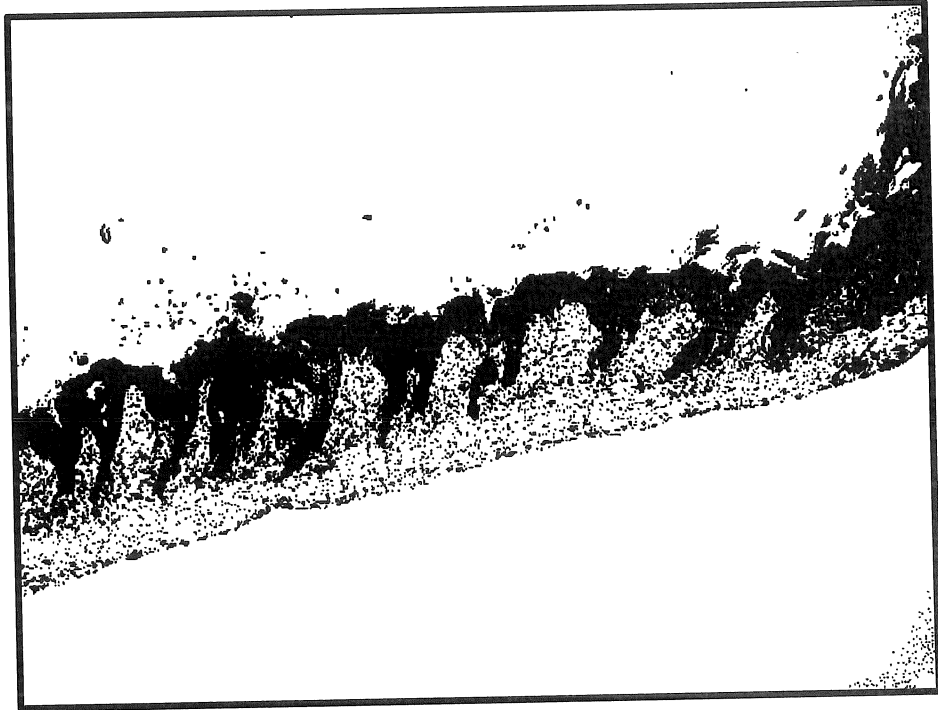
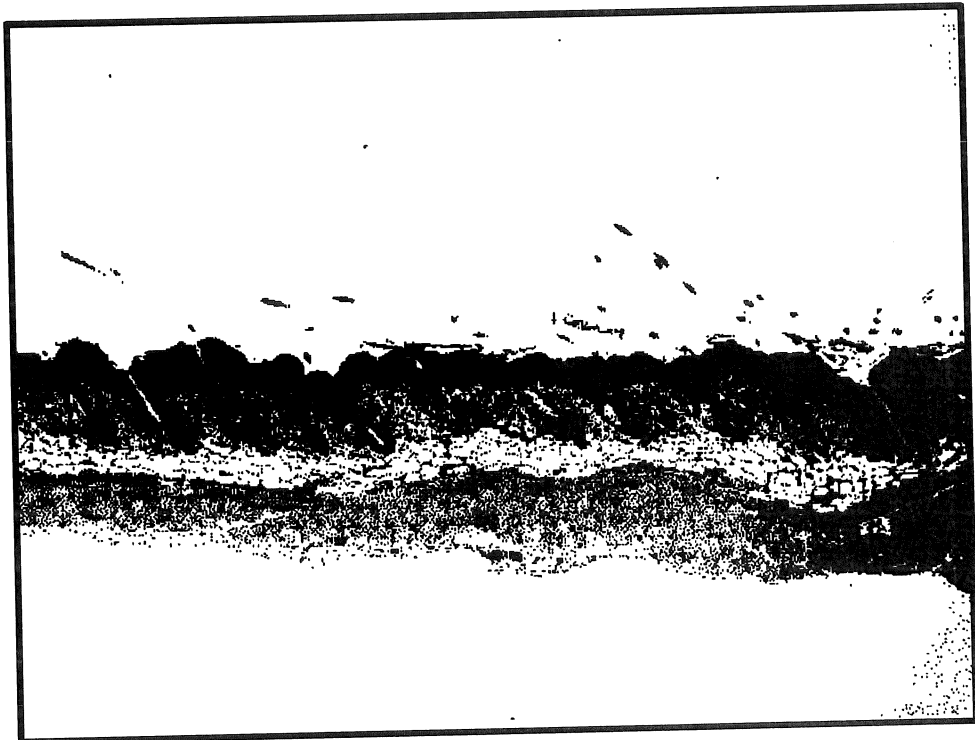


HÌNH 17

Bệnh gai đen



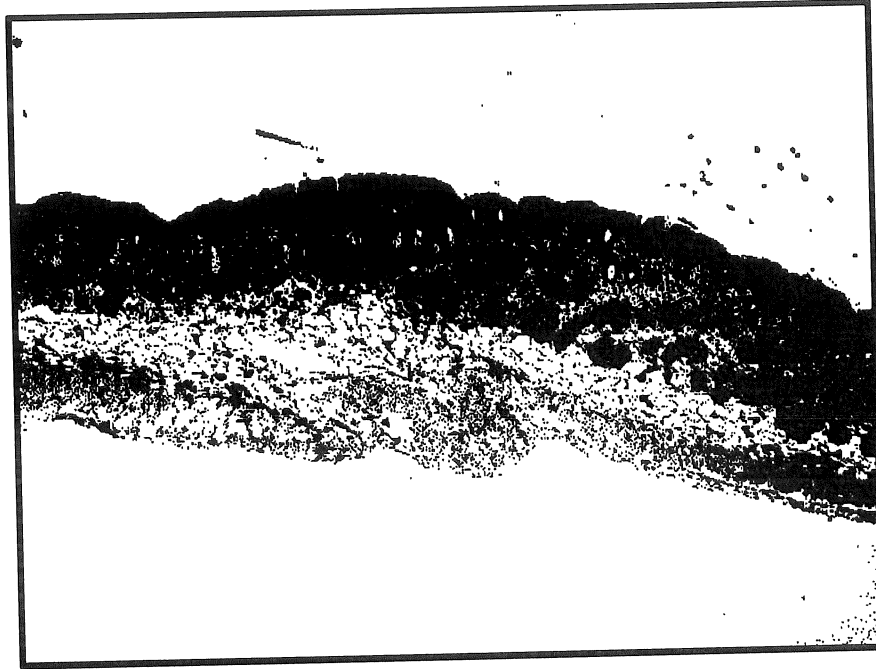
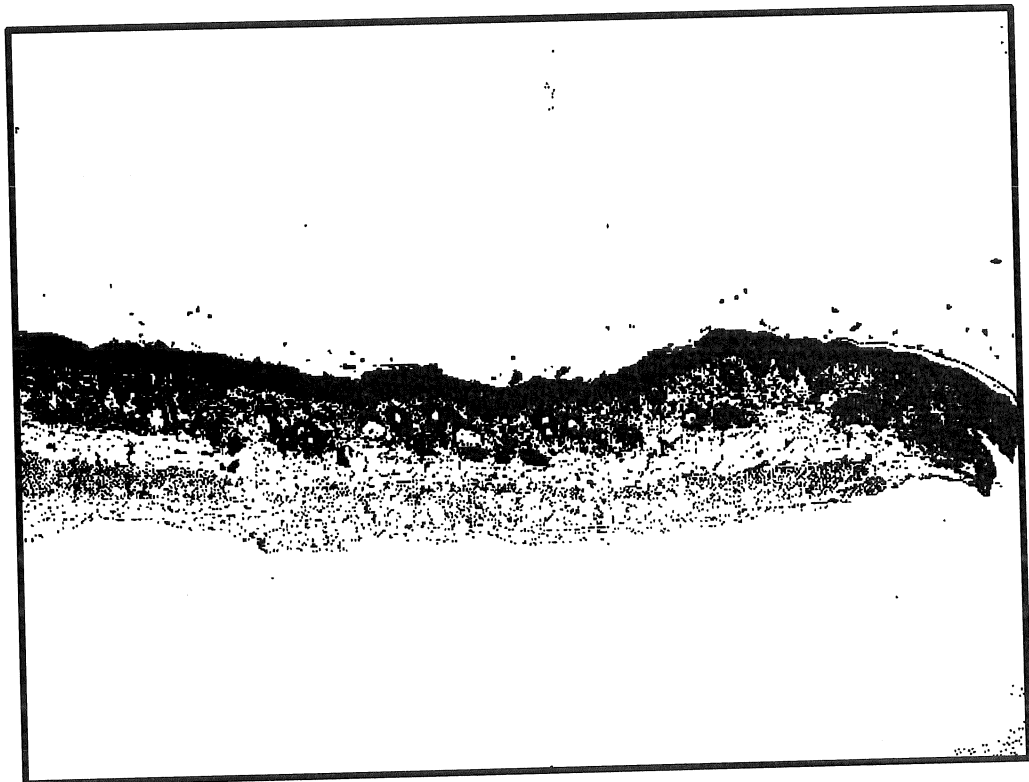
24/29

HÌNH 18A**HÌNH 18B**

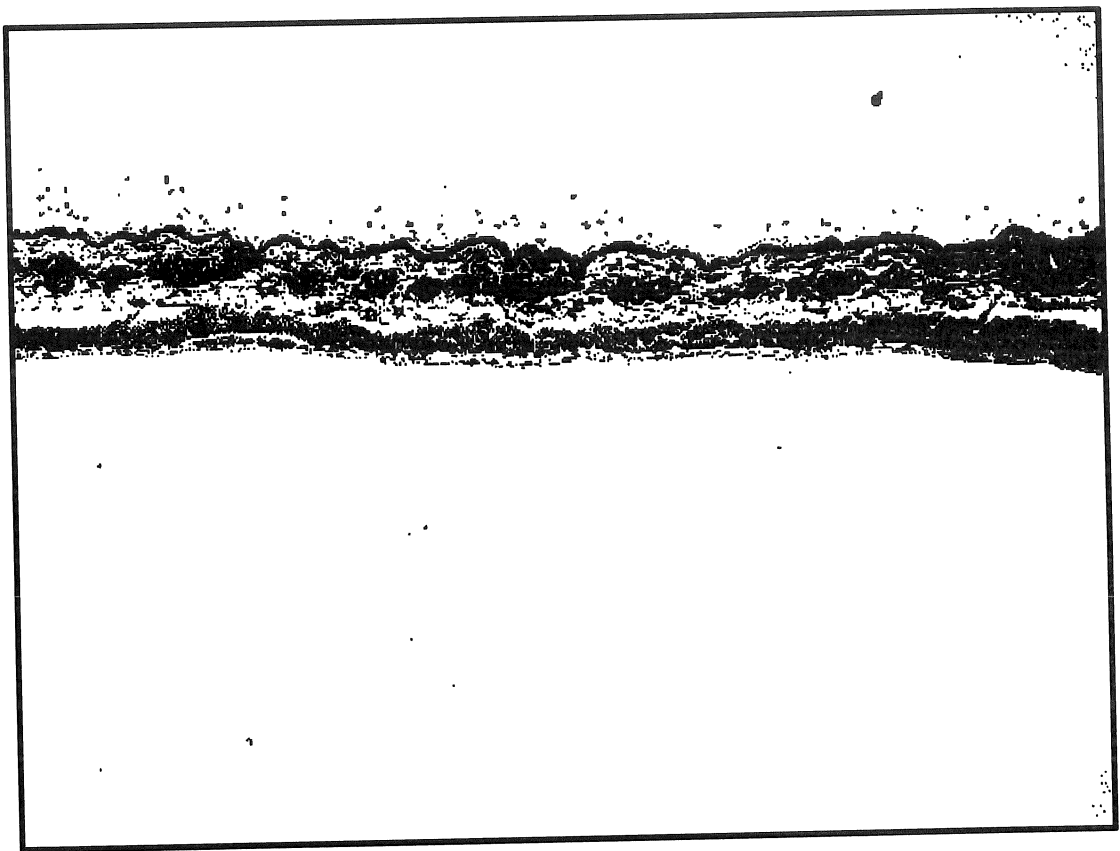
25/29

HÌNH 18C**HÌNH 18D**

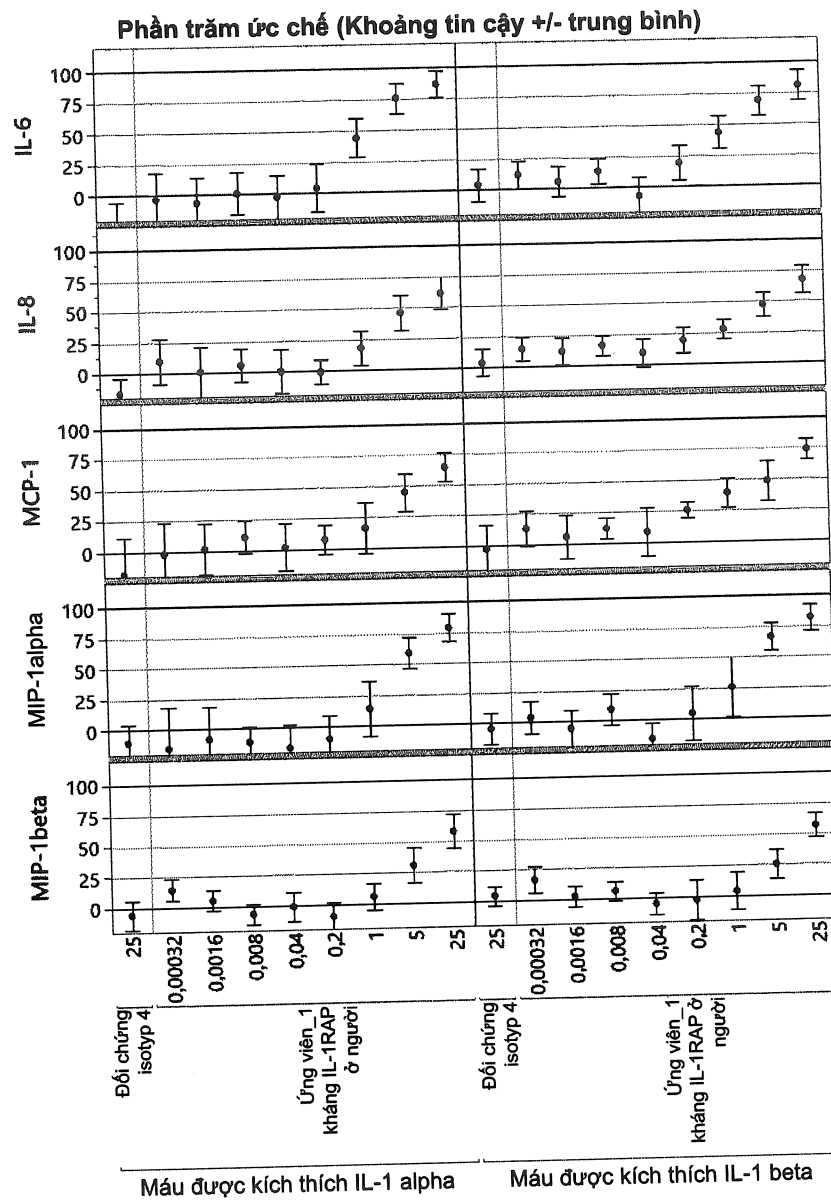
26/29

HÌNH 18E**HÌNH 18F**

27/29

HÌNH 18G

HÌNH 19A



29/29

HÌNH 19B

Số thẻ cho đáp ứng	IL-6	IL-8	MCP-1	MIP-1alpha	MIP-1beta
Kích thích IL-1 α	13	11	10	8	10
Kích thích IL-1 β	15	15	10	10	11

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Ichnos Sciences SA

<120> Kháng thể kháng IL1RAP và dược phẩm chứa kháng thể này

<130> ISB 880 01 EP00

<160> 349

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 373

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 1 - (hs)IL-1RAP-ECD(S21-E359)-Avi-His của người

<400> 1

```

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1           5           10           15
Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
          20           25           30
Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
          35           40           45
Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
          50           55           60
Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
65           70           75           80
Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
          85           90           95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
          100          105          110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
          115          120          125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp

```

130 135 140
 Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
 145 150 155 160
 Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
 165 170 175
 Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
 180 185 190
 Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
 195 200 205
 Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
 245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270
 Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
 290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335
 Thr Val Glu Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu
 340 345 350
 Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Gly His His His His His
 355 360 365
 His His His His His
 370

<210> 2

<211> 373

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 2 -(cyno)IL-1RAP-ECD(S21-E359)-Avi-His của khi
cynomolgus

<400> 2

```

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1           5           10           15
Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
          20           25           30
Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
        35           40           45
Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
       50           55           60
Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
      65           70           75           80
Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
          85           90           95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
        100          105          110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
       115          120          125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
      130          135          140
Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
     145          150          155          160
Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
          165          170          175
Leu Ser Phe Leu Ile Ala Phe Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
        180          185          190
Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
       195          200          205
Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
      210          215          220
Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
     225          230          235          240
Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
          245          250          255
Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
        260          265          270
Pro Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu

```

```

                275                280                285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
    290                295                300
Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
    305                310                315                320
Val Ala Lys Ala Ala Thr Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
                325                330                335
Thr Val Glu Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu
                340                345                350
Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Gly His His His His His
    355                360                365
His His His His His
    370

```

<210> 3

<211> 373

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 3 - (gg)IL-1RAP-ECD(S139-E478)-Avi-His của gà

<400> 3

```

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

```

115	120	125
Gln Met Phe Tyr Leu Glu Tyr Ala Asn Glu Lys Ile Thr Cys Pro Asp		
130	135	140
Ile Asp Gly Phe Tyr Pro Ala Ser Val Thr Pro Thr Val Lys Trp Tyr		
145	150	155
Gln Ser Cys Arg Leu Val Asp Gly Phe Asn Glu Arg His Pro Gln Gly		
165	170	175
Ser Lys Leu Val Ile Gly Val Val Arg Ser Ala Tyr Glu Gly Asn Tyr		
180	185	190
Thr Cys Ile Val Thr Phe Lys Asp His Gly Arg Thr Tyr Asn Leu Thr		
195	200	205
Arg Thr Val Lys Met Lys Val Val Gly Ser Pro Asn Lys Ala Leu Pro		
210	215	220
Pro Gln Phe Thr Ser Pro Asn Glu Lys Val Val Tyr Glu Leu Glu Ala		
225	230	235
Gly Asp Asp Leu Val Leu Pro Cys Glu Val Phe Phe Thr Phe Leu Lys		
245	250	255
Asp Ser Arg Thr Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Asn Thr Asp		
260	265	270
Asp Ile Val Asp Ala Lys Val Thr Gln Ser Glu Ile Pro Arg Arg Phe		
275	280	285
Glu Asp Lys Thr Ile Ile Arg Thr Leu Thr Val Ala Lys Ala Thr Pro		
290	295	300
Glu Asp Leu Lys Arg Asn Tyr Thr Cys Tyr Ala Arg Asn Ala Lys Gly		
305	310	315
Glu Gly His Ser Gln Ala Ile Val His Met Lys Val Ala Ala Pro Lys		
325	330	335
Tyr Thr Val Glu Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe		
340	345	350
Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Gly His His His His		
355	360	365
His His His His His		
370		

<210> 4

<211> 373

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 4 - IL-1RAP-ECD(ggD1(S139-P246)-hsD2(V132-V233)-hsD3(V234-E359))-Avi-His

<400> 4

```

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Val Asp Thr Met Lys Gln Ile Gln
1           5           10           15
Ile Tyr Asp Gly Glu Pro Ala Lys Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu Thr
           20           25           30
Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
           35           40           45
Ile Trp Tyr Arg Ile Gly Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
           50           55           60
Phe Arg Leu Pro Asp Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Thr Leu Trp
65           70           75           80
Phe Trp Pro Ala Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
           85           90           95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
           100          105          110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
           115          120          125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
           130          135          140
Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
145          150          155          160
Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
           165          170          175
Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
           180          185          190
Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
           195          200          205
Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
           210          215          220
Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225          230          235          240
Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
           245          250          255
Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile

```

```

                260                265                270
Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
                275                280                285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
                290                295                300
Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
305                310                315                320
Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
                325                330                335
Thr Val Glu Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu
                340                345                350
Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Gly His His His His His
                355                360                365
His His His His His
                370

```

<210> 5

<211> 373

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 5 - IL-1RAP-ECD(ggD1(S139-H260)-ggD2(S261-V349)-hsD3(V243-E359))-Avi-His

<400> 5

```

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

```


Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
 100 105 110
 Pro Lys Asp Gln Gly Ser Cys Val Ser His Ser Ile Lys Pro Val Glu
 115 120 125
 Gln Met Phe Tyr Leu Glu Tyr Ala Asn Glu Lys Ile Thr Cys Pro Asp
 130 135 140
 Ile Asp Gly Phe Tyr Pro Ala Ser Val Thr Pro Thr Val Lys Trp Tyr
 145 150 155 160
 Gln Ser Cys Arg Leu Val Asp Gly Phe Asn Glu Arg His Pro Gln Gly
 165 170 175
 Ser Lys Leu Val Ile Gly Val Val Arg Ser Ala Tyr Glu Gly Asn Tyr
 180 185 190
 Thr Cys Ile Val Thr Phe Lys Asp His Gly Arg Thr Tyr Asn Leu Thr
 195 200 205
 Arg Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
 210 215 220
 Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
 245 250 255
 Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
 260 265 270
 Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
 275 280 285
 Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
 290 295 300
 Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
 325 330 335
 Thr Val Glu Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu
 340 345 350
 Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Gly His His His His His
 355 360 365
 His His His His His
 370

<210> 6

<211> 550

<212> PRT

<213> Người thông minh (Homo sapiens)

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 6 - IL-1RAP của người, có chiều dài đầy đủ

<400> 6

```

Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1           5           10           15
Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
          20           25           30
Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
          35           40           45
Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Glu Pro Ile Asn
          50           55           60
Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
65           70           75           80
Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
          85           90           95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
          100          105          110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
          115          120          125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
          130          135          140
Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
145          150          155          160
Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
          165          170          175
Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Cys
          180          185          190
Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His Leu Thr Arg Thr
          195          200          205
Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala Val Pro Pro Val
          210          215          220
Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225          230          235          240
Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser

```

	245	250	255
Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile			
	260	265	270
Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu			
	275	280	285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu			
	290	295	300
Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu			
305	310	315	320
Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr			
	325	330	335
Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val Leu Leu Val Val			
	340	345	350
Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu Met Val Leu Phe			
	355	360	365
Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu Asp Gly Lys Glu			
	370	375	380
Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu Glu Glu Glu Phe			
385	390	395	400
Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu Phe Gly Tyr Lys			
	405	410	415
Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly Ile Val Thr Asp			
	420	425	430
Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu Leu Val Val Leu			
	435	440	445
Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu Leu Glu Leu Lys			
	450	455	460
Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile Asn Val Ile Leu			
465	470	475	480
Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys Glu Leu Lys Arg			
	485	490	495
Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly Glu Lys Ser Lys			
	500	505	510
Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val Ala Met Pro Val			
	515	520	525
Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln Gly Leu Ser Tyr			
	530	535	540
Ser Ser Leu Lys Asn Val			
545	550		

<210> 7

<211> 550

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 7 - IL-1RAP của khỉ cynomolgus, có chiều dài đầy đủ

<400> 7

```

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

```

```

210                215                220
Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro Gly Glu
225                230                235                240
Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe Leu Met Asp Ser
                245                250                255
Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp Asp Ile
                260                265                270
Pro Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His Ser Arg Thr Glu
                275                280                285
Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr Ser Glu
290                295                300
Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser Ala Lys Gly Glu
305                310                315                320
Val Ala Lys Ala Ala Thr Val Lys Gln Lys Val Pro Ala Pro Arg Tyr
                325                330                335
Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val Leu Leu Val Val
                340                345                350
Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu Met Val Leu Phe
                355                360                365
Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu Asp Gly Lys Glu
                370                375                380
Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu Glu Glu Glu Phe
385                390                395                400
Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu Phe Gly Tyr Lys
                405                410                415
Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly Ile Val Thr Asp
                420                425                430
Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu Leu Val Val Leu
                435                440                445
Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu Leu Glu Leu Lys
                450                455                460
Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Gln Gly Asn Ile Asn Val Ile Leu
465                470                475                480
Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys Glu Leu Lys Arg
                485                490                495
Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly Glu Lys Ser Lys
                500                505                510
Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val Ala Met Pro Val
                515                520                525

```

Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln Gly Leu Ser Tyr
 530 535 540
 Ser Ser Leu Lys Asn Val
 545 550

<210> 8
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 8 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-A4

<400> 8
 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 Ala Ser Gly Gly Val Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ala Ile Ile Pro Asp Phe Gly His Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Ala Ser Pro Tyr Lys Gly Trp Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 9

<211> 224

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 9 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-A6

<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 Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ala Phe Arg Ile Tyr
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Leu Ala Ser Gly Gly Gly Ala Val Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Ala Lys Asp Ile Tyr Gly Tyr Gly Tyr Gly Asp Ile Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 10

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 10 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-B11

<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 Ala Ser Gly Gly His Phe Ser Gln Phe
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ala Pro Gly Leu Gly Ser Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Ser Ala Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 11

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 11 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-B5

<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 Ala Ser Gly Gly Tyr Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30
 Ile Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Ala Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Arg Ser Thr Thr Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 12

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 12 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-C3

<400> 12

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

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 13

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 13 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-C5

<400> 13

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 Ala Ser Gly Gly His Phe Asn Ile Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Ala Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Ala Ser Ile Tyr His Gly Trp Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 14

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 14 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-C8

<400> 14

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 Ala Ser Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 15

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 15 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-C9

<400> 15

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 Ala Ser Gly Gly Val Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 Ala Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Gly Tyr Gly Ala Thr Phe Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Pro Val Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 16

<211> 226

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 16 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-D2

<400> 16

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 Ala Ser Gly Gly Arg Phe Ser Asp Ser
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Leu Pro Gln Phe Gly Ala Pro Leu Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Val Val Gly Tyr Val Pro Asp Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160

```
<210> 17
<211> 222
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 17 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1rap-UCP02-G11

```

<400> 17
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 Ala Ser Gly Gly Gln Phe Asn Asp Tyr
          20          25          30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
          35          40          45
Gly Tyr Ile Ile Pro Ala Tyr Gly Gln Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
          50          55          60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Ala Arg Val Pro Tyr Ser Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
          100          105          110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
          115          120          125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
          130          135          140

```

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 18

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 18 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-G3

<400> 18

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 Ala Ser Gly Gly Tyr Leu Asn Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ala Val Ile Pro Arg Tyr Gly Gln Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Pro Leu Gly Tyr Ser Tyr Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 19

<211> 227

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 19 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-G8

<400> 19

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 Ala Ser Gly Gly Phe Phe Ser Ile Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ala Pro Ala Ala Gly Ile Ala Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Ser Pro Gly Arg Val Arg Glu Glu Tyr Trp Tyr Asp
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 210 215 220
 Lys Ser Cys
 225

<210> 20

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 20 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-H8

<400> 20

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 Ala Ser Gly Gly Val Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Glu Phe Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg His Ser Ser Ala Tyr Ser Pro Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 21

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 21 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP02-H9

<400> 21

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 Ala Ser Gly Gly Pro Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro His His Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg His Pro Asp Val Tyr Thr Pro Trp Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 22

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 22 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-A2

<400> 22

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 Ala Ser Gly Gly Lys Phe Asn Phe Asp
 20 25 30
 Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Asp Phe Ala Ser Thr His Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Val Pro Asp Tyr Tyr Thr Gly Trp Met Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 23

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 23 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-A3

<400> 23

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 Ala Ser Gly Gly Leu Phe Asn Glu Asn
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Asp Val Gly Ala Ala Phe Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Ser Ile Tyr Thr Ala Trp Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 24

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 24 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-B4

<400> 24

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 Ala Ser Gly Gly Pro Phe Ser Gln His
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Phe Glu Gly Val Ala Phe Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Ser Ser Ser Tyr Tyr Ser Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 25

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 25 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-B6

<400> 25

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 Ala Ser Gly Asp Pro Phe Ser Val Tyr
 20 25 30
 Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Ala Gln Gln Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Val Pro Asp Pro Tyr Ser Gly His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 26

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 26 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-C1

<400> 26

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 Ala Ser Gly Gly Arg Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro His Phe Gly Ala Val Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Ser Val Tyr Thr Gly Trp Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 27

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 27 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-C2

<400> 27

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 Ala Ser Gly Asp Pro Phe Lys Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Thr Thr Gly Glu Ala Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg His Gly Thr Thr Tyr Ala Ala Phe Asp His Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 28

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 28 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-F4

<400> 28

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 Ala Ser Gly Gly Gly Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ala Ile Leu Pro Glu Gln Gly Ala Ala Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Val Gly Leu Tyr Val Pro Tyr Met Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 29

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 29 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-G3

<400> 29

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 Ala Ser Gly Gly Pro Leu Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Ala Phe His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Asn Phe Ala Gln Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Phe Ser Ile Tyr Ser Gly Trp Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 30

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 30 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP03-G4

<400> 30

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 Ala Ser Gly Gly Arg Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 Val Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Lys Pro Phe Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Ser Asp Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 31

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 31 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-UCP04-C1

<400> 31

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Gly Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Leu Tyr Trp Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 32

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 32 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-C4

<400> 32

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 Ala Ser Gly Gly Lys Leu Asn Ala Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 33

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 33 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-C8

<400> 33

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 Ala Ser Gly Gly Leu Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110

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

<210> 34

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 34 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-D8

<400> 34

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 Ala Ser Gly Gly His Phe Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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

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

<210> 35

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 35 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-F1

<400> 35

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 Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys
225

<210> 36

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 36 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-G11

<400> 36

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 Ala Ser Gly Gly Arg Phe His Gln Tyr
20 25 30
Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

<210> 37

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 37 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-G1

<400> 37

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 Ala Ser Gly Gly Ala Ser Arg Ala Tyr
 20 25 30
 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 38

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 38 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1A-G3

<400> 38

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 Ala Ser Gly Gly Pro Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 39

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 39 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-A8

<400> 39

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 Ala Ser Gly Glu Gly Ser Tyr Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 40

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 40 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-B10

<400> 40

```
<210> 41
<211> 225
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 41 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-B8

<400> 41

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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 42

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 42 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-D8

<400> 42

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 Ala Ser Gly Pro Ser Asn Pro Val Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 43

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 43 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-E7

1000 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 Ala Ser Gly Ser Lys His Gly Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys
225

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-F3

<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 Ala Ser Gly Gly Pro His Thr Ala His
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<213> Trình tự nhân tạo

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 45 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-G10

1000

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

225

<210> 46

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 46 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H1B-H10

<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 Ala Ser Gly Ser Thr Trp Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys

225

<210> 47

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 47 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H2B-B5

<400> 47

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 Ala Ser Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Thr Val Gly Gly Phe Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys

225

<210> 48

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 48 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-H2B-C10

<400> 48

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 Ala Ser Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 49

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 49 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-recA

<400> 49

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 Ala Ser Gly Ser Thr Trp Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 50

<211> 225

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 50 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C8-recB

<400> 50

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 Ala Ser Gly Gly Pro Arg Arg Ala Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

```
<210> 51
<211> 225
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

```

<400> 51
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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
20             25             30
Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35             40             45
Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50             55             60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
100            105            110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115            120            125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

```

130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys
 225

<210> 52

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 52 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-UCP02-C8
 IgG1

<400> 52

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 Ala Ser Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 53
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 53 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-UCP02-C3
 IgG1

<400> 53

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

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 54

<211> 452

<213> Trình tự nhân tạo

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 54 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-C8-RecC IgG1

4000 51

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

```

                245                250                255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
                260                265                270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
                275                280                285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
                290                295                300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                310                315                320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
                325                330                335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
                340                345                350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
                355                360                365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
                370                375                380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                390                395                400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                410                415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
                420                425                430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
                435                440                445
Ser Pro Gly Lys
                450

```

<210> 55

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 55 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-C8-RecC-AA
IgG1

<400> 55

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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

```
<400> 56
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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
          20          25          30
Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
          35          40          45
Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
          50          55          60
```

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 57

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 57 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-C8-RecC-AS
 IgG1

<400> 57

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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435
Ser Pro Gly Lys
450

440

445

<210> 58
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 58 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-C8-RecC-ES
IgG1

<400> 58

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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
20 25 30
Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 59

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 59 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1Rap-C8-RecC-ET

IgG1

<400> 59

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 60

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 60 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-A2

<400> 60

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

```

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

```

<210> 61

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 61 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-A3

<400> 61

```

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

```

```

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

```

<210> 62

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 62 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-B5

<400> 62

```

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

```

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

<210> 63

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 63 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-B7

<400> 63

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

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

<210> 64

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 64 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-D2

<400> 64

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

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

<210> 65

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 65 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-F5

<400> 65

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

```

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

```

<210> 66

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 66 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP01-G10

<400> 66

```

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

```

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

<210> 67

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 67 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP02-B8

<400> 67

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

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

<210> 68

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 68 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP02-F6

<400> 68

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

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

<210> 69

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 69 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-MP02-G2

<400> 69

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

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

<210> 70

<211> 221

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 70 - chuỗi nặng FAB kháng IL-1Rap-C3-UCP01-H4

<400> 70

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

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

<210> 71

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 71 - Chuỗi nhẹ Vk3-15/Jk1-Ck

<400> 71

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

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

<210> 72

<211> 451

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 72 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1RAP C8-RecC-ES
IgG1

<400> 72

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 Ala Ser Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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
 Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly
 450

<210> 73

<211> 447

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 73 - chuỗi nặng LALA kháng IL-1RAP C3-A3 mmIgG2a

<400> 73

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
 180 185 190
 Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
 245 250 255
 Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 260 265 270
 Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 275 280 285
 Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 340 345 350
 Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 355 360 365
 Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 370 375 380
 Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp

385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 405 410 415
 Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 420 425 430
 Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
 435 440 445

<210> 74

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 74 - chuỗi nhẹ LALA kháng IL-1RAP C3-A3 mmIgG2a

<400> 74

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

```

                165                170                175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
                180                185                190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
                195                200                205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
                210

```

<210> 75

<211> 439

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 75 - chuỗi nặng ABC mmIgG1

<400> 75

```

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

```

```

                                165                      170                      175
Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro
                                180                      185                      190
Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
                                195                      200                      205
Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile
                                210                      215                      220
Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
225                      230                      235                      240
Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val
                                245                      250                      255
Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val
                                260                      265                      270
Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln
                                275                      280                      285
Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln
                                290                      295                      300
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala
305                      310                      315                      320
Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro
                                325                      330                      335
Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala
                                340                      345                      350
Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu
                                355                      360                      365
Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr
                                370                      375                      380
Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr
385                      390                      395                      400
Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe
                                405                      410                      415
Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys
                                420                      425                      430
Ser Leu Ser His Ser Pro Gly
                                435

```

<210> 76

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 76 - chuỗi nhẹ ABC mmIgG

<400> 76

```

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

```

<210> 77

<211> 445

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 77 - chuỗi nặng LALA ABC mmIgG2a

<400> 77

```

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
           20           25           30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
           65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Lys Ser Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
           100          105          110
Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
           115          120          125
Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu
           130          135          140
Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly
           145          150          155          160
Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp
           165          170          175
Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro
           180          185          190
Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
           195          200          205
Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro
           210          215          220
Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
           225          230          235          240
Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
           245          250          255

```

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

<210> 78

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 78 - chuỗi nặng LALA ABC IgG1 của người

<400> 78

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Ser Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

```

          340          345          350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
          355          360          365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
          370          375          380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
          385          390          395          400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
          405          410          415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
          420          425          430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          435          440          445

```

<210> 79

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 79 - chuỗi nhẹ ABC IgG của người

<400> 79

```

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

```



```

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

```

<210> 80

<211> 154

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 80 - Anakinra

<400> 80

```

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

```

	115		120		125										
Ala	Asp	Gln	Pro	Val	Ser	Leu	Thr	Asn	Met	Pro	Asp	Glu	Gly	Val	Met
	130					135							140		
Val	Thr	Lys	Phe	Tyr	Phe	Gln	Glu	Asp	Glu						
145						150									

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 81 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-A4

<400> 81

Gly	Gly	Val	Phe	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Ser
1				5					10

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 82 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-A6

<400> 82

Gly	Gly	Ala	Phe	Arg	Ile	Tyr	Ala	Ile	His
1				5					10

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 83 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-B11

<400> 83

Gly Gly His Phe Ser Gln Phe Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 84 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-B5

<400> 84

Gly Gly Tyr Phe Ser Ala Tyr Ile Ile Ser
1 5 10

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 85 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-C3

<400> 85

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 86 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-C5

<400> 86

Gly Gly His Phe Asn Ile Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 87 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-C8

<400> 87

Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 88 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-C9

<400> 88

Gly Gly Val Phe Ser Tyr Tyr Ala Phe His

1 5 10

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 89 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-D2

<400> 89

Gly Gly Arg Phe Ser Asp Ser Ala Ile His

1 5 10

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 90 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-G11

<400> 90

Gly Gly Gln Phe Asn Asp Tyr Ala Ile His

1 5 10

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 91 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-G3

<400> 91

Gly Gly Tyr Leu Asn Glu Tyr Ala Ile His

1 5 10

<210> 92

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 92 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-G8

<400> 92

Gly Gly Phe Phe Ser Ile Tyr Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 93 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-H8

<400> 93

Gly Gly Val Phe Ser Gly Tyr Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 94 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP02-H9

<400> 94

Gly Gly Pro Phe Ser Ser Tyr Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 95 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-A2

<400> 95

Gly Gly Lys Phe Asn Phe Asp Val Ile His

1

5

10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 96 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-A3

<400> 96

Gly Gly Leu Phe Asn Glu Asn Ala Ile His

1

5

10

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 97 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-B4

<400> 97

Gly Gly Pro Phe Ser Gln His Ala Ile Ser

1

5

10

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 98 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-B6

<400> 98

Gly Asp Pro Phe Ser Val Tyr Ile Ile His
1 5 10

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 99 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-C1

<400> 99

Gly Gly Arg Phe Ser Ser Asn Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 100 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-C2

<400> 100

Gly Asp Pro Phe Lys Arg Tyr Ala Ile Gly
1 5 10

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 101 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-F4

<400> 101

Gly Gly Gly Phe Ser Glu Tyr Ala Ile His

1 5 10

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 102 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-G3

<400> 102

Gly Gly Pro Leu Ser Gly Tyr Ala Phe His

1 5 10

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 103 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP03-G4

<400> 103

Gly Gly Arg Phe Ser His Tyr Val Phe Ser

1 5 10

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 104 - CDRH1 kháng IL-1Rap-UCP04-C1

<400> 104

Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Thr Met Ser

1 5 10

<210> 105

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 105 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C4

<400> 105

Gly Gly Lys Leu Asn Ala Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 106 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C8

<400> 106

Gly Gly Leu Phe Ser Asp Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 107 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-D8

<400> 107

Gly Gly His Phe Asn Asn Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 108 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-F1

<400> 108

Gly Gly Ile Phe Ser Asn Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 109

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 109 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G11

<400> 109

Gly Gly Arg Phe His Gln Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 110 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G1

<400> 110

Gly Gly Ala Ser Arg Ala Tyr Ala Ile His

1

5

10

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 111 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G3

<400> 111

Gly Gly Pro Phe Ser Asp Tyr Ala Ile Gln

1

5

10

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 112 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-A8

<400> 112

Gly Glu Gly Ser Tyr Pro Tyr Ala Ile Gln

1

5

10

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 113 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B10

<400> 113

Gly Val Thr His Thr Ser Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 114 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B8

<400> 114

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 115 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-D8

<400> 115

Gly Pro Ser Asn Pro Val Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 116 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-E7

<400> 116

Gly Ser Lys His Gly Asn Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 117 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-F3

<400> 117

Gly Gly Pro His Thr Ala His Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 118 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-G10

<400> 118

Gly Gly Pro Arg Arg Ala Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 119 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H1B-H10

<400> 119

Gly Ser Thr Trp Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 120 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H2B-B5

<400> 120

Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 121 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-H2B-C10

<400> 121

Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 122 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-recA

<400> 122

Gly Ser Thr Trp Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 123 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-recB

<400> 123

Gly Gly Pro Arg Arg Ala Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 124 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-recC

<400> 124

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 125 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AA

<400> 125

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 126 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-RecC-DA

<400> 126

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 127 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AS

<400> 127

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 128 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ES

<400> 128

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 129 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ET

<400> 129

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala Ile Gln

1 5 10

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 130 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A2

<400> 130

Gly Phe Thr Phe Ala Glu Tyr Ala Met Asn

1 5 10

<210> 131

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 131 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A3

<400> 131

Gly Phe Ile Phe Ser His Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 132

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 132 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B5

<400> 132

Gly Phe Ile Phe Ser Thr Tyr Gly Met Gly

1 5 10

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 133 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B7

<400> 133

Gly Phe Thr Leu Ser Gly Phe Ser Met Ser

1 5 10

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 134 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-D2

<400> 134

Gly Phe Thr Phe Ser Gln Phe Gly Met Thr

1 5 10

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 135 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-F5

<400> 135

Gly Phe Pro Leu Ser Asn Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 136 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP01-G10

<400> 136

Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Gly Met Ser

1 5 10

<210> 137

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP02-B8

<400> 137

Gly Phe Thr Phe Glu His Ser Ser Ala Gly

1 5 10

<210> 138

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP02-F6

<400> 138

Gly Phe Thr Phe Pro Asp Tyr Pro Leu Gly

1 5 10

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 139 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-MP02-G2

<400> 139

Gly Phe Thr Tyr Asp Val Ala Pro Met Gly

1 5 10

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 140 - CDRH1 kháng IL-1Rap-C3-UCP01-H4

<400> 140

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala Met Gly

1 5 10

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 141 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-A4

<400> 141

Ala Ile Ile Pro Asp Phe Gly His Thr Ile

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 142 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-A6

<400> 142

Gly Ile Leu Ala Ser Gly Gly Gly Ala Val

1 5 10

<210> 143

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 143 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-B11

<400> 143

Gly Ile Ala Pro Gly Leu Gly Ser Thr Arg
1 5 10

<210> 144

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 144 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-B5

<400> 144

Gly Ile Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 145 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-C3

<400> 145

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 146 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-C5

<400> 146

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Ala Val Asp

1 5 10

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 147 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-C8

<400> 147

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 148 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-C9

<400> 148

Gly Ile Ile Pro Gly Tyr Gly Ala Thr Phe

1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 149 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-D2

<400> 149

Tyr Ile Leu Pro Gln Phe Gly Ala Pro Leu
1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 150 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-G11

<400> 150

Tyr Ile Ile Pro Ala Tyr Gly Gln Ala Glu
1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 151 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-G3

<400> 151

Ala Val Ile Pro Arg Tyr Gly Gln Thr Tyr
1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 152 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-G8

<400> 152

Gly Ile Ala Pro Ala Ala Gly Ile Ala Glu

1 5 10

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 153 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-H8

<400> 153

Gly Ile Ile Pro Glu Phe Gly Ala Thr Asn

1 5 10

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 154 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP02-H9

<400> 154

Gly Ile Ile Pro His His Gly Ala Thr Tyr

1 5 10

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 155 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-A2

<400> 155

Gly Ile Ile Pro Asp Phe Ala Ser Thr His
1 5 10

<210> 156

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 156 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-A3

<400> 156

Gly Ile Ile Pro Asp Val Gly Ala Ala Phe
1 5 10

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 157 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-B4

<400> 157

Gly Ile Ile Pro Phe Glu Gly Val Ala Phe
1 5 10

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 158 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-B6

<400> 158

Tyr Ile Ile Ala Gln Gln Gly Ser Ala Ser

1 5 10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 159 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-C1

<400> 159

Gly Ile Ile Pro His Phe Gly Ala Val Tyr

1 5 10

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 160 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-C2

<400> 160

Gly Ile Ile Pro Thr Thr Gly Glu Ala Ile

1 5 10

<210> 161

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 161 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-F4

<400> 161

Ala Ile Leu Pro Glu Gln Gly Ala Ala Tyr

1 5 10

<210> 162

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 162 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-G3

<400> 162

Gly Ile Ile Pro Asn Phe Ala Gln Thr Asp

1 5 10

<210> 163

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 163 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP03-G4

<400> 163

Gly Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Lys Pro Phe

1 5 10

<210> 164

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 164 - CDRH2 kháng IL-1Rap-UCP04-C1

<400> 164

Ala Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 165

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 165 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C4

<400> 165

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp
1 5 10

<210> 166

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 166 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C8

<400> 166

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp
1 5 10

<210> 167

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 167 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-D8

<400> 167

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 168

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 168 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-F1

<400> 168

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 169

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 169 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G11

<400> 169

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 170 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G1

<400> 170

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 171

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 171 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G3

<400> 171

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 172 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-A8

<400> 172

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 173

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 173 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B10

<400> 173

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp
1 5 10

<210> 174

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 174 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B8

<400> 174

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp
1 5 10

<210> 175

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 175 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-D8

<400> 175

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp
1 5 10

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 176 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-E7

<400> 176

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 177 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-F3

<400> 177

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 178 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-G10

<400> 178

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 179 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H1B-H10

<400> 179

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp

1 5 10

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 180 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H2B-B5

<400> 180

Tyr Ile Ile Pro Thr Val Gly Gly Phe Asp

1 5 10

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 181 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-H2B-C10

<400> 181

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 182 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-recA

<400> 182

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 183 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-recB

<400> 183

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 184

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 184 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-recC

<400> 184

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 185

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 185 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AA

<400> 185

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 186

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-RecC-DA

<400> 186

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 187

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 187 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AS

<400> 187

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 188 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ES

<400> 188

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 189 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ET

<400> 189

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp

1 5 10

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 190 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A2

<400> 190

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu

1 5 10

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 191 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A3

<400> 191

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 192 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B5

<400> 192

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 193

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 193 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B7

<400> 193

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

135

136

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 200 - CDRH2 kháng IL-1Rap-C3-UCP01-H4

<400> 200

Ala Ile Ser Tyr Asp Gly Glu Gly Thr Leu
1 5 10

<210> 201

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 201 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-A4

<400> 201

Ala Arg Ala Ser Pro Tyr Lys Gly Trp Trp Asp Tyr
1 5 10

<210> 202

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 202 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-A6

<400> 202

Ala Arg Ala Lys Asp Ile Tyr Gly Tyr Gly Tyr Gly Asp Ile
1 5 10

<210> 203

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 203 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-B11

<400> 203

Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Ser Ala Trp Leu Ala Tyr
1 5 10

<210> 204

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 204 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-B5

<400> 204

Ala Arg Gly Arg Ser Thr Thr Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 205

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 205 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-C3

<400> 205

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 206

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 206 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-C5

<400> 206

Ala Arg Ala Ser Ile Tyr His Gly Trp Met Ala Tyr

1 5 10

<210> 207

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 207 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-C8

<400> 207

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 208

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 208 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-C9

<400> 208

Ala Arg Pro Val Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 209

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 209 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-D2

<400> 209

Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Val Val Gly Tyr Val Pro Asp Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 210

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 210 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-G11

<400> 210

Ala Arg Val Pro Tyr Ser Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 211

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 211 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-G3

<400> 211

Ala Arg Pro Leu Gly Tyr Ser Tyr Gly Trp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 212

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 212 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-G8

<400> 212

Ala Arg Gly Gln Ser Pro Gly Arg Val Arg Glu Glu Tyr Trp Tyr Asp
 1 5 10 15
 Tyr

<210> 213

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 213 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-H8

<400> 213

Ala Arg His Ser Ser Ala Tyr Ser Pro Trp Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 214

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 214 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP02-H9

<400> 214

Ala Arg His Pro Asp Val Tyr Thr Pro Trp Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 215

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 215 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-A2

<400> 215

Ala Arg Val Pro Asp Tyr Tyr Thr Gly Trp Met Ala Tyr
1 5 10

<210> 216

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 216 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-A3

<400> 216

Ala Arg Gly Ser Ile Tyr Thr Ala Trp Phe Ala Val
1 5 10

<210> 217

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 217 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-B4

<400> 217

Ala Arg Ser Ser Ser Tyr Tyr Ser Trp Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 218 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-B6

<400> 218

Ala Arg Val Pro Asp Pro Tyr Ser Gly His Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 219

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 219 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-C1

<400> 219

Ala Arg Gly Ser Val Tyr Thr Gly Trp Phe Asp Asn
1 5 10

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 220 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-C2

<400> 220

Ala Arg His Gly Thr Thr Tyr Ala Ala Phe Asp His
1 5 10

<210> 221

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 221 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-F4

<400> 221

Ala Arg Val Gly Leu Tyr Val Pro Tyr Met Asp Ile
1 5 10

<210> 222

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 222 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-G3

<400> 222

Ala Arg Phe Ser Ile Tyr Ser Gly Trp Ser Asp Val
1 5 10

<210> 223

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 223 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP03-G4

<400> 223

Ala Arg Ser Asp Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 224

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 224 - CDRH3 kháng IL-1Rap-UCP04-C1

<400> 224

Ala	Arg	Ser	Leu	Tyr	Trp	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr
1			5						10	

<210> 225

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 225 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C4

<400> 225

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 226

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 226 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-C8

<400> 226

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 227

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 227 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-D8

<400> 227

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 228

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 228 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-F1

<400> 228

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 229

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 229 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G11

<400> 229

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 230

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 230 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G1

<400> 230

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 231

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 231 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1A-G3

<400> 231

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 232

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 232 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-A8

<400> 232

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 233

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 233 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B10

<400> 233

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 234

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 234 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-B8

<400> 234

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 235

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 235 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-D8

<400> 235

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 236

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 236 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-E7

<400> 236

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 237

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 237 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-F3

<400> 237

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 238

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 238 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-G10

<400> 238

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 239

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 239 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H1B-H10

<400> 239

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 240

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 240 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H2B-B5

<400> 240

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 241

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 241 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-H2B-C10

<400> 241

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 242

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 242 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-recA

<400> 242

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 243

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 243 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-recB

<400> 243

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 244

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 244 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-recC

<400> 244

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 245

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 245 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AA

<400> 245

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Ala	Ala	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 246

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 246 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-RecC-DA

<400> 246

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ala	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 247

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 247 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-RecC-AS

<400> 247

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Ala	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 248

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 248 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ES

<400> 248

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Glu	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 249

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 249 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C8-RecC-ET

<400> 249

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Glu	Thr	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 250

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 250 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A2

<400> 250

Ala	Arg	Phe	Arg	Tyr	Tyr	Thr	Ala	Phe	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 251

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 251 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-A3

<400> 251

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 252

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 252 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B5

<400> 252

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 253

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 253 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-B7

<400> 253

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 254

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 254 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-D2

<400> 254

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 255

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 255 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-F5

<400> 255

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 256

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 256 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP01-G10

<400> 256

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 257

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 257 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP02-B8

<400> 257

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 258

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 258 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP02-F6

<400> 258

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 259

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 259 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-MP02-G2

<400> 259

Ala Arg Phe Arg Tyr Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 260

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 260 - CDRH3 kháng IL-1Rap-C3-UCP01-H4

<400> 260

Ala Arg Phe His Tyr Arg Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 261

<211> 360

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> >SỐ ID TRÌNH TỰ: 261 - IL-1RAP của chuột mus musculus

<400> 261

Met Gly Leu Leu Trp Tyr Leu Met Ser Leu Ser Phe Tyr Gly Ile Leu
1 5 10 15
Gln Ser His Ala Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met
20 25 30
Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro
35 40 45
Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Tyr Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ser
50 55 60
Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu
65 70 75 80
Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys
85 90 95
Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr
100 105 110
Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro
115 120 125
Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Ala Met Arg Phe
130 135 140
Pro Val His Lys Met Tyr Ile Glu His Gly Ile His Lys Ile Thr Cys

158

<223> X ở vị trí 2 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, G, S, P, E. X ở vị trí 3 có thể là bất kỳ trong số I, L, A, G, T, S, P, H, K, R. X ở vị trí 4 có thể là bất kỳ trong số L, F, A, S, W, H, N, R. X ở vị trí 5 có thể là bất kỳ trong số G, T, S, Y, P, H, E, N, R. X ở vị trí 6 có thể là

<222> X ở vị trí 6 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, A, S, P, Q, N, D. X ở vị trí 7 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin Y, H. X ở vị trí 10 là axit amin bất kỳ trong số các axit amin H, Q.

Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Ile Xaa
1 5 10

<213> Trình tự nhân tạo

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 263 - CDRH2 ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

<222> 3, 6, 9, 5
<223> X ở vị trí 5 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin T, S. X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, L. X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin F, Y. X ở vị trí 8 có thể là gốc bất kỳ trong số các gốc Q, G.

159

1

5

10

<210> 264

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 264 - CDRH3 ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở người

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 8,9

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 8,9

<223> X ở vị trí 8 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A,E,D. X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, T, S.

<400> 264

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Xaa	Xaa	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10					15

<210> 265

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 265 - CDRH1 ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 3,4,5,6,7,8,9,10

<223> X ở vị trí 3 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin I, T, P. X ở vị trí 4 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin L, F, Y. X ở vị trí 5 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, S, P, E, D. X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin V, G, T, H, Q, E, N, D. X ở vị trí 7 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 7,8,9,10

<223> X ở vị trí 7 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin F, A, S, Y. X ở vị trí 8 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin A, G, S, P. X ở vị trí 9 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin L, M, A. X ở vị trí 10 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin G, T, S, N.

<400> 265

Gly Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 266

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 266 - CDRH1 ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột

<400> 266

Ile Val Leu Phe Cys Met Ala Gly Thr Ser Trp Tyr Pro His Gln Glu
1 5 10 15
Asn Asp Lys Arg
20

<210> 267

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 267 - CDRH3 ứng viên_1 kháng IL-1RAP ở chuột

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 4,6,7

<223> ở vị trí 4 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin R,H. X ở vị trí 6 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin Y, R. X ở vị trí 7 có thể là axit amin bất kỳ trong số các axit amin T, S.

<400> 267

Ala	Arg	Phe	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Ala	Phe	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 268

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> > SỐ ID TRÌNH TỰ: 268 - Trình tự biến đổi chuỗi nhẹ kháng IL-1RAP

<400> 268

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

```
<210> 269
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<400> 269
Glu Tyr Ala Ile Gln
1 5

```
<210> 270
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> ISB 880-C8_CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 270
Gly Gly Gln Phe Ser Glu
1 5

```
<210> 271
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> ISB 880-C8_CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 271

Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr Ala

1

5

<210> 272

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 272

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 273

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 273

Ile Pro Leu His Gly Gln

1

5

<210> 274

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 274

Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val

1

5

<210> 275

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 275

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 276

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 276

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 277

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 277

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 278

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 278

Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
1 5

<210> 279

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 279

Gly Ser Pro Ala Glu Pro
1 5

<210> 280

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 280

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1

5

<210> 281

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 281

Tyr Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 282

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 282

Ile Pro Leu His Gly Gln

1

5

<210> 283

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 283

Ile Ile Pro Leu His Gly Gln Val

1 5

<210> 284

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 284

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 285

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 285

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 286

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H1B-B8 _CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 286

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 287

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 287

Glu Tyr Ala Ile Gln
1 5

<210> 288

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 288

Gly Gly Gln Phe Ser Glu
1 5

<210> 289

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 289

Gly Gly Gln Phe Ser Glu Tyr Ala

1

5

<210> 290

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 290

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 291

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 291

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1

5

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 292

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr
1 5

<210> 293

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 293

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 294

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 294

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 295

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-H2B-C10 _CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 295

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 296

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 296

Glu	Pro	Tyr	Ala	Ile	Gln
1				5	

<210> 297

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 297

Gly	Ser	Pro	Ala	Glu	Pro
1				5	

<210> 298

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 298

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1

5

<210> 299

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 299

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 300

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 300

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1

5

<210> 301

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 301

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 302

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 302

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 303

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 303

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 304

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 304

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10					15

<210> 305

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 305

Glu	Pro	Tyr	Ala	Ile	Gln
1				5	

<210> 306

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 306

Gly	Ser	Pro	Ala	Glu	Pro
1				5	

<210> 307

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 307

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1

5

<210> 308

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 308

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 309

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 309

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1

5

<210> 310

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 310

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 311

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 311

Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 312

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 312

Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 313

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AA_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 313

Ala	Arg	Gly	Gln	Thr	Leu	Tyr	Ala	Ala	Gly	Arg	Gln	Phe	Asp	Ile
1				5					10				15	

<210> 314

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 314

Glu	Pro	Tyr	Ala	Ile	Gln
1				5	

<210> 315

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 315

Gly	Ser	Pro	Ala	Glu	Pro
1				5	

<210> 316

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 316

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1 5

<210> 317

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 317

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 318

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 318

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1 5

<210> 319

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 319

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 320

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 320

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 321

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 321

Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 322

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-DA_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 322

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Asp Ala Gly Arg Gln Phe Asp Ile
 1 5 10 15

<210> 323

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 323

Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
 1 5

<210> 324

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 324

Gly Ser Pro Ala Glu Pro

1 5

<210> 325

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 325

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1 5

<210> 326

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 326

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 327

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 327

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1 5

<210> 328

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 328

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 329

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 329

Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 330

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS _CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 330

Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 331

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-AS_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 331

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Ala Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 332

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 332

Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
1 5

<210> 333

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 333

Gly Ser Pro Ala Glu Pro

1 5

<210> 334

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 334

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1 5

<210> 335

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 335

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 336

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 336

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1 5

<210> 337

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 337

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 338

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 338

Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 339

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES_CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 339

Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 340

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ES_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 340

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Ser Gly Arg Gln Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 341

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH1_Kabat (31-35)

<400> 341

Glu Pro Tyr Ala Ile Gln
1 5

<210> 342

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH1_Chothia (26-31)

<400> 342

Gly Ser Pro Ala Glu Pro

1 5

<210> 343

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH1_IMGT (27-38)

<400> 343

Gly Ser Pro Ala Glu Pro Tyr Ala

1 5

<210> 344

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_Kabat (50-65)

<400> 344

Tyr Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 345

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_Chothia (52-56)

<400> 345

Ile Pro Ser Leu Gly Gly

1 5

<210> 346

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH2_IMGT (56-65)

<400> 346

Ile Ile Pro Ser Leu Gly Gly Tyr

1 5

<210> 347

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET _CDRH3_Kabat (95-102)

<400> 347

Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Thr Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 348

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET_CDRH3_Chothia (95-102)

<400> 348

Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Thr Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 349

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> ISB 880-C8-recC-ET_CDRH3_IMGT (105-117)

<400> 349

Ala Arg Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Thr Gly Arg Gln Phe Asp Ile

1 5 10 15