(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) **1-0052566**

(51)[2020.01] **C12N 15/13**; C07K 16/46; C12P 21/08; C07K 16/36; C12N 1/15

(13) **B**

(21) 1-2020-02444
(22) 27/09/2018
(86) PCT/JP2018/035832 27/09/2018
(87) WO 2019/065795 04/04/2019
(30) 2017-189647 29/09/2017 JP
(45) 27/10/2025 451
(43) 25/09/2020 390A
(73) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 1158543, Japan
(72) TERANISHI, Yuri (JP); KATO, Kazuki (JP); KOGA, Hikaru (JP); IGAWA, Tomoyuki (JP); YAMAGUCHI, Kazuki (JP); SOEDA, Tetsuhiro (JP).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

# (54) KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2020-02444

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX không tăng và có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng.

**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố của yếu tố đông máu VIII (FVIII) và dược phẩm chứa phân tử này. Sáng chế còn đề cập đến phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, phương pháp điều chế phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, và phương pháp kiểm soát sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Bệnh rối loạn đông máu A là sự bất thường trong chảy máu gây ra bởi sự thiếu hụt hoặc suy giảm di truyền chức năng của yếu tố đông máu VIII (FVIII). Bệnh nhân rối loạn đông máu A thường được dùng chế phẩm chảy máu FVIII (sử dụng theo yêu cầu). Trong những năm gần đây, chế phẩm FVIII còn được dùng dự phòng để ngăn ngừa chảy máu (sử dụng ngăn ngừa; các tài liệu không phải patent 1 và 2). Chu kỳ bán rã của chế phẩm FVIII trong máu là trong khoảng từ 12 đến 16 giờ. Do đó, để ngăn ngừa liên tục, chế phẩm FVIII được sử dụng cho bệnh nhân ba lần trong một tuần (các tài liệu không phải patent 3 và 4). Đối với việc sử dụng theo yêu cầu, chế phẩm FVIII còn được dùng bổ sung đều đặn để ngăn ngừa tái chảy máu khi cần thiết. Ngoài ra, việc sử dụng chế phẩm FVIII được tiến hành qua đường tĩnh mạch. Do đó, có nhu cầu mạnh mẽ về các dược chất có gánh nặng ít hơn chế phẩm FVIII.

Đôi khi, các kháng thể kháng FVIII (các chất ức chế) phát triển trong bệnh nhân rối loạn đông máu. Các chất ức chế này làm mất hiệu quả của chế phẩm FVIII. Các chế phẩm bắc cầu được sử dụng cho chảy máu ở bệnh nhân đã phát triển các chất ức chế (bệnh nhân có chất ức chế). Cơ chế hoạt động của chúng là không phụ thuộc vào chức năng FVIII, nghĩa là, chức năng xúc tác sự hoạt hoá của yếu tố đông máu X (FX) bằng yếu tố đông máu IX (FIXa) đã hoạt hoá. Do đó, trong một số trường hợp, các chế phẩm bắc cầu có thể không dừng chảy máu đủ. Theo đó, có nhu cầu mạnh mẽ về các dược chất không bị ảnh hưởng bởi sự có mặt của các chất ức chế và có thể thay thế chức năng FVIII.

Bằng cách giải quyết các vấn đề này, các kháng thể đặc hiệu kép thay thế chức năng của FVIII và việc sử dụng kháng thể này đã được báo cáo (các tài liệu patent 1, 2, 3, và 4). Kháng thể đặc hiệu kép kháng FIXa và FX có thể thay thế chức năng của FVIII bằng cách định vị hai yếu tố này gần nhau để thể hiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (tài liệu không phải patent 5). Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của các kháng thể được báo cáo rằng có thể được cải thiện bằng cách tối ưu hoá ái lực và định hướng dành cho FIXa và FX (tài liệu không phải patent 6). Ngoài ra, hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của các kháng thể được biết là chịu ảnh hưởng của IgG isotyp, kiểu liên kết disulfit, trình tự axit amin của vùng khớp nối, và sự có mặt hoặc không có mặt của các chuỗi đường trong vùng Fc (tài liệu không phải patent 7). ACE910 (Emicizumab) là một trong các kháng thể này, có hoạt tính cao trong việc thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, đã được báo cáo là thể hiện hiệu quả cầm máu trong các mô hình khỉ có rối loạn đông máu (các tài liệu không phải patent 8 và 9). Ngoài ra, trong các thử nghiệm lâm sàng trên đối tượng khoẻ mạnh, ACE910 (Emicizumab) được xác nhận là đạt được các dược động học rất tốt (chu kỳ bán rã dài) và khả năng dung nạp (tài liệu không phải patent 10), và trong

các thử nghiệm lâm sàng trên bệnh nhân rối loạn đông máu A có hoặc không có các chất ức chế, việc sử dụng ACE910 (Emicizumab) đã làm giảm đáng kể tỷ lệ chảy máu so với trước khi sử dụng ACE910 (Emicizumab) (tài liệu không phải patent 11).

Như được mô tả trên đây, hiệu quả làm giảm tỷ lệ chảy máu đã được quan sát thấy cho ACE910 (Emicizumab) trong các thử nghiệm lâm sàng. Tuy nhiên, trong các thử nghiệm sản sinh thrombin *in vitro* sử dụng huyết tương thiếu FVIII, hiệu quả cải thiện bởi ACE910 (Emicizumab) trên lượng tạo ra tối đa của thrombin (chiều cao đỉnh) là thấp hơn lượng được tạo ra trong sự có mặt của mức FVIII bình thường 100 U/dL (tài liệu không phải patent 8). Do đó, mong muốn cải thiện thêm hiệu quả của thuốc. Ngoài ra, với việc cân nhắc đến sự thuận tiện cho bệnh nhân rối loạn đông máu A, kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được yêu cầu là có thể làm giảm thêm liều sử dụng thông qua việc cải thiện hoạt tính đặc hiệu, và tương tự.

Thông thường, có trường hợp mà dược phẩm kháng thể hoạt động như kháng nguyên để cảm ứng việc sản xuất kháng kháng thể (ADA) (tài liệu không phải patent 12). Vì việc sử dụng liên tục ACE910 (Emicizumab) trở nên khó khăn cho bệnh nhân rối loạn đông máu với sự xuất hiện của ADA (kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab)), nên yêu cầu phải có kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII mà có thể được sử dụng cho bệnh nhân này.

ACE910 (Emicizumab) là kháng thể đặc hiệu kép đã được tối ưu hoá theo nhiều khía cạnh bằng cách đưa nhiều đột biến thế axit amin vào kháng thể dẫn đầu hBS1. Kháng thể dẫn đầu hBS1 thu được bằng cách nhân hoá kháng thể đặc hiệu kép có được thông qua việc gây miễn dịch trên động vật nhận diện FIX và/hoặc FIXa, và FX. ACE910 (Emicizumab) có hoạt tính cao trong việc thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (tài liệu không phải patent 6 và tài liệu patent 4). Tuy nhiên, để tăng cường hiệu

quả thuốc và cải thiện hoạt tính đặc hiệu, kháng thể đặc hiệu kép thay thế chức năng của FVIII là cần thiết, kháng thể này có hoạt tính tối đa cao hơn (hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tối đa) so với ACE910 (Emicizumab) và có thể thể hiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII ở các nồng độ thấp hơn nồng độ của ACE910 (Emicizumab). Tuy nhiên, cho đến nay, không có báo cáo nào về kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính cao đáng kể trong việc thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII so với ACE910 (Emicizumab) theo quan điểm về nồng độ và hoạt tính tối đa (các tài liệu patent 4 và 5).

Một số phương pháp đã được báo cáo trước đây như phương pháp sản xuất kháng thể đặc hiệu kép loại IgG có các vùng hằng định của người (kháng thể loại IgG có vùng hằng định của người có tính đặc hiệu liên kết với kháng nguyên A trên một tay và tính đặc hiệu liên kết với kháng nguyên B trên tay còn lại). Thông thường, kháng thể đặc hiệu kép loại IgG được tạo bởi hai loại chuỗi H (được gọi là, chuỗi H cho kháng nguyên A và chuỗi H cho kháng nguyên B) và hai loại chuỗi L (được gọi là, chuỗi L cho kháng nguyên A và chuỗi L cho kháng nguyên B). Do sự biểu hiện của hai loại chuỗi H và hai loại chuỗi L nên khi kháng thể đặc hiệu kép loại IgG được biểu hiện, có thể có 10 kiểu kết hợp dưới dạng các tổ hợp của H2L2. Trong số các kiểu kết hợp này, có một kiểu kết hợp có tính đặc hiệu liên kết mong muốn (IgG có tính đặc hiệu liên kết với kháng nguyên A trên một tay và có tính đặc hiệu liên kết với kháng nguyên B trên tay còn lại). Kết quả là, để có được kháng thể đặc hiệu kép mong muốn, cần phải tinh chế một loại kháng thể mong muốn từ mười loại kháng thể, điều này có hiệu quả cực kỳ thấp và khó khăn.

Các phương pháp được báo cáo để giải quyết vấn đề này, có liên quan đến việc ưu tiên tiết ra IgG có tổ hợp dị hợp của chuỗi H cho kháng nguyên A và chuỗi H cho kháng nguyên B, bằng cách thay thế các axit amin trong vùng CH3 của chuỗi IgG H

(các tài liệu patent 6, 7, 8 và 9, và các tài liệu không phải patent 13 và 14). Trong số các phương pháp này, phương pháp sử dụng sự cản trở vật lý dưới dạng "núm" và "lỗ", và phương pháp sử dụng sự đẩy điện tích đã được báo cáo.

Phương pháp để thu được phân tử mong muốn một cách hiệu quả cũng được báo cáo, phương pháp này sử dụng chuỗi L chung trong đó chuỗi L cho kháng nguyên A và chuỗi L cho kháng nguyên B có mặt trên cùng trình tự axit amin (các tài liệu patent 10 và 11). Tuy nhiên, vì việc sử dụng chuỗi L chung có khả năng làm giảm đáng kể tính ái lực kháng nguyên, nên phương pháp này không hẳn là phương pháp tối ưu. Kết quả là, để kháng thể đặc hiệu kép liên kết với hai kháng nguyên với tính ái lực cao, tốt hơn là chỉ chuỗi L và chuỗi H cho kháng nguyên A được kết hợp với nhau, và chỉ chuỗi L và chuỗi H cho kháng nguyên B được kết hợp với nhau. Ngoài ra, một phương pháp đã được báo cáo là cho phép các chuỗi H và các chuỗi L cho từng kháng nguyên kết hợp bất kể các vùng biến đổi, phương pháp này bao gồm bước thay thế các axit amin trong các miền CH1 và CL là các vùng hằng định, thay vì các axit amin trong các vùng biến đổi (các tài liệu patent 7, 12, và 13). Tuy nhiên, phương pháp này cần phải được cải thiện nhiều để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép mong muốn một cách có hiệu quả.

Tài liệu trích dẫn

Các tài liệu patent

Tài liệu patent 1: WO 2005/035754

Tài liệu patent 2: WO 2005/035756

Tài liệu patent 3: WO 2006/109592

Tài liệu patent 4: WO 2012/067176

Tài liệu patent 5: WO 2017/110980

Tài liệu patent 6: WO 1996/027011

Tài liệu patent 7: WO 2006/106905

Tài liệu patent 8: WO 2009/089004

Tài liệu patent 9: WO 2010/129304

Tài liệu patent 10: WO 98/050431

Tài liệu patent 11: WO 2006/109592

Tài liệu patent 12: WO 2007/147901

Tài liệu patent 13: WO 2013/065708

Các tài liệu không phải patent

Tài liệu không phải patent 1: Blood 58, 1-13 (1981)

Tài liệu không phải patent 2: Nature 312, 330-337 (1984)

Tài liệu không phải patent 3: Nature 312, 337-342 (1984)

Tài liệu không phải patent 4: Biochim.Biophys.Acta 871, 268-278 (1986)

Tài liệu không phải patent 5: Nat Med. 2012 Oct;18 (10):1570-4.

Tài liệu không phải patent 6: PLoS One. 2013;8 (2):e57479.

Tài liệu không phải patent 7: MAbs. 2015;7 (1):120-8.

Tài liệu không phải patent 8: J Thromb Haemost. 2014 Feb;12 (2):206-213.

Tài liệu không phải patent 9: Blood. 2014 Nov 13;124 (20):3165-71.

Tài liệu không phải patent 10: Blood. 2016, quyển 127, 13

Tài liệu không phải patent 11: New Eng J Med 2016 , 374;21, 2044-2053

Tài liệu không phải patent 12: Self/Nonself quyển 1, 2010 - kỳ 4

Tài liệu không phải patent 13: Protein Engineering. 1996, quyển 9:617-621

Tài liệu không phải patent 14: Nature Biotechnology. 1998, quyển 16:677-681

**Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Giải quyết vấn đề theo sáng chế

Sáng chế được tạo ra trong tình trạng kỹ thuật nêu trên. Mục đích của sáng chế là đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố của yếu tố đông máu VIII (FVIII) và dược phẩm chứa phân tử này dưới dạng thành phần hoạt tính.

Ngoài ra, sáng chế được tạo ra trong tình trạng kỹ thuật nêu trên. Mục đích khác của sáng chế là đề xuất kháng thể trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, phương pháp điều chế kháng thể này, và phương pháp kiểm soát sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong kháng thể.

Cách thức giải quyết vấn đề

Để thu được kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính đặc hiệu cao và hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tối đa, các tác giả sáng chế đã thu thập từ thư viện kháng thể người, các chuỗi nhẹ mới có trình tự khác với các chuỗi nhẹ của ACE910 (Emicizumab), các chuỗi nhẹ này có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, và kháng thể đặc hiệu kép được điều chế trong đó các đột biến thế axit amin được đưa vào các ví trí khác nhau trong các chuỗi nhẹ nêu trên và các chuỗi nặng của ACE910

(Emicizumab). Sau đó, các tác giả đã phát hiện ra rằng hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của yếu tố đông máu IX (FIX) tăng lên cùng với sự tăng lên của hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII.

Trong kết quả của thử nghiệm chuyên sâu, các tác giả sáng chế đã thành công trong việc tìm ra kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX không tăng và hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã chọn vùng hằng định chuỗi nặng CH1 và vùng hằng định chuỗi nhẹ (CL) làm các vùng chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có sự kết hợp được kiểm soát, và tiến hành các nghiên cứu chuyên sâu trong việc kiểm soát sự kết hợp giữa CH1 và CL. Kết quả là, các tác giả sáng chế đã thành công trong việc phát hiện ra rằng sự kết hợp không mong muốn giữa CH1 và CL có thể được ngăn chặn bằng cách thay thế các gốc axit amin cụ thể trong mặt phân cách giữa CH1 và CL có các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau, và phát hiện rằng các phân tử khác loại được hình thành một cách hiệu quả hơn bằng cách sử dụng các biến đổi được mô tả trên đây mà chỉ đưa núm và lỗ vào CH3.

Sáng chế được tạo ra dựa trên những phát hiện này, và đề xuất một cách cụ thể các mục từ [1] đến [25] dưới đây:

[1] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có chức năng thay thế chức năng của yếu tố đông máu VIII, trong đó phân tử này có vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X,

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (Q499) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (QNK131) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 163, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 164; và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (J327) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (JNL095) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 166, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167;

trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay thế bằng các axit amin khác, được loại bỏ, hoặc được gắn xen trong ít nhất một trong các HVR;

[2] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục [1], trong đó:

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit

amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, và 102 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a, và 96 theo quy ước đánh số Kabat được thay thế hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai;

[3] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục [1] hoặc mục [2], trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 31 là histidin, gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 98 là serin, gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại bỏ, gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 26 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 27 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc

axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin, gốc axit amin ở vị trí 51 là serin, gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin, gốc axit amin ở vị trí 57 là valin, gốc axit amin ở vị trí 59 là serin, gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat; và

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 27 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 29 là serin, gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 95a là tyrosin hoặc được loại bỏ, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

[4] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [3], trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 168, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 169, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 170 (QH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 171, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 172, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 173 (QH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174, HVR-H2

chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 176 (QH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 177, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 (QH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 (QH06); hoặc

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 184, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 (QH07); và

miền biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 186, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 188 (QL21);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 189, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191 (QL22);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 192, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 193, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 194 (QL23);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 195, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 196, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 197 (QL24);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 199, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 200 (QL25);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 202, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 203 (QL26);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 204, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 205, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 206 (QL28);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 207, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 208, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 209 (QL29);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 210, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 211, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 212 (QL30);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 213, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 214, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 (QL31);

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 217, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 218 (QL32); hoặc

12) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 219, HVR-L2

chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 220, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 221 (QL33), và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 222, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 223, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 224 (JH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 225, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 226, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 227 (JH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 228, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 229, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 230 (JH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 231, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 232, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 233 (JH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 234, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 235, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 236 (JH05);

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 237, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 238, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 239 (JH06);

7) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 240, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 241, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 242 (JH07);

8) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 243, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 244, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 245 (JH08);

9) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 246, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 247, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 248 (JH09);

10) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 249, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 250, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 251 (JH10); hoặc

11) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 252, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 253, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 254 (JH11), và

miền biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 255, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 256, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 257 (JL01);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 258, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 259, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 260 (JL02);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 261, HVR-L2 chứa

trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 262, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 263 (JL03);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 264, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 265, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 266 (JL04);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 267, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 268, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 269 (JL05);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 270, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 271, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 272 (JL06);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 273, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 274, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 276, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 277, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 278 (JL08);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 279, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 280, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 281 (JL09);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 282, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 283, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 284 (JL10); hoặc

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 285, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 286, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 287 (JL11);

[5] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục [1], trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 45 (Q499) và miền biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 13 (QNK131), và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 46 (J327) và miền biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 31 (JNL095),

trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay thế bằng các axit amin khác, được loại bỏ, hoặc được gắn xen trong ít nhất một trong các miền biến đổi chuỗi nặng hoặc các miền biến đổi chuỗi nhẹ;

[6] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục [5], trong đó:

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b, và 102 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng

nguyên thứ hai, và

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai;

[7] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục [5] hoặc mục [6], trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 31 là histidin, gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 39 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 98 là serin, gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại bỏ, gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat,

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 26 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 27 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 38 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 45 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 60 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 70 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 76 là asparagin, gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 80 là prolin hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 83 là methionin hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 85 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số

Kabat,

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 28 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin, gốc axit amin ở vị trí 39 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 51 là serin, gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin, gốc axit amin ở vị trí 57 là valin, gốc axit amin ở vị trí 59 là serin, gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin, gốc axit amin ở vị trí 67 là leuxin, gốc axit amin ở vị trí 73 là isoleuxin, gốc axit amin ở vị trí 82b là axit glutamic, hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat, và

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 3 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 8 là prolin, gốc axit amin ở vị trí 15 là leuxin, gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 27 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 29 là serin, gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 38 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 48 là isoleuxin, gốc axit amin ở vị trí 49 là tyrosin, gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 95a là tyrosin hoặc được loại bỏ, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

[8] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7], trong đó

vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm:

miền biến đổi chuỗi nặng (QH) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, hoặc SEQ ID NO: 60, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (QL) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71 hoặc SEQ ID NO: 72; và

vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai bao gồm:

miền biến đổi chuỗi nặng (JH) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 hoặc SEQ ID NO: 83, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (JL) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93 hoặc SEQ ID NO: 94;

[9] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [8], trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm các vùng hằng định chứa các trình tự axit amin nêu trong (1) hoặc (2) dưới đây, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai bao gồm các vùng hằng định chứa các trình tự axit amin nêu trong (1) hoặc (2) dưới đây khác với các vùng hằng định được bao gồm trong vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất:

(1) SEQ ID NO: 119 làm vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 100 làm

vùng hằng định chuỗi nhẹ

(2) SEQ ID NO: 118 làm vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 102 làm vùng hằng định chuỗi nhẹ;

[10] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], là kháng thể đa đặc hiệu hoặc kháng thể đặc hiệu kép;

[11] kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và chuỗi nặng kháng thể thứ hai và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X, trong đó kháng thể đặc hiệu kép này là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 120, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149 (QH01/QL21//JH01/JL01);

(b) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149 (QH02/QL22//JH01/JL01);

(c) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150 (QH03/QL23//JH02/JL02);

(d) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150 (QH03/QL24//JH02/JL02);

(e) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 151 (QH02/QL22//JH03/JL03);

(f) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 152 (QH02/QL22//JH04/JL04);

(g) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150 (QH02/QL22//JH02/JL02);

(h) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150 (QH04/QL25//JH02/JL02);

(i) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150 (QH04/QL26//JH02/JL02);

(j) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153 (QH04/QL26//JH05/JL05);

(k) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153 (QH04/QL28//JH05/JL05);

(l) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154 (QH04/QL28//JH06/JL06);

(m) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình

tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153 (QH04/QL29//JH05/JL05);

(n) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154 (QH04/QL29//JH06/JL06);

(o) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155 (QH06/QL30//JH07/JL07);

(p) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 135, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156 (QH04/QL31//JH08/JL08);

(q) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155 (QH06/QL32//JH07/JL07);

(r) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157 (QH06/QL32//JH09/JL09);

(s) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158 (QH06/QL30//JH10/JL10);

(t) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159 (QH07/QL33//JH11/JL11);

(u) kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t);

(v) kháng thể đặc hiệu kép cạnh tranh liên kết với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t);

[12] phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, trong đó một tập hợp hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit

amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau:

(a) gốc axit amin trong vùng hằng định chuỗi nặng (CH1) ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong vùng hằng định chuỗi nhẹ (CL) ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat,

(c) các gốc axit amin trong CH1 là ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin trong CL là ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat;

[13] phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [12], trong đó phân tử này còn có hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau;

[14] phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [13], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau là một hoặc hai tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) hoặc (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat;

[15] phân tử liên kết kháng nguyên theo mục bất kỳ trong số các mục từ [12] đến [14], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong tập hợp (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E), axit aspartic (D),

(Y) lysin (K), arginin (R), histidin (H);

[16] phân tử liên kết kháng nguyên theo mục bất kỳ trong số các mục từ [12] đến [15], là kháng thể đặc hiệu kép;

[17] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, trong đó phương pháp này bao gồm các bước từ (1) đến (3) dưới đây:

(1) làm biến đổi (các) axit amin mã hoá vùng hằng định chuỗi nặng (CH1) và vùng hằng định chuỗi nhẹ (CL) sao cho một tập hợp hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây đẩy tĩnh điện lẫn nhau:

(a) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat,

(c) các gốc axit amin trong CH1 là ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin trong CL là ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat;

(2) đưa (các) axit amin đã được biến đổi vào tế bào chủ và nuôi cấy tế bào chủ

sao cho (các) axit amin này được biểu hiện.

(3) thu phân tử liên kết kháng nguyên từ mẫu nuôi cấy tế bào chủ;

[18] phương pháp kiểm soát sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong phân tử liên kết kháng nguyên, trong đó phương pháp này bao gồm bước làm biến đổi axit nucleic sao cho một tập hợp hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau:

(a) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat,

(c) các gốc axit amin trong CH1 là ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin trong CL là ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat;

[19] axit nucleic đã được phân lập mã hoá phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10], [11], hoặc [16], hoặc phân tử liên kết kháng nguyên theo mục bất kỳ trong số các mục từ [12] đến [15];

[20] tế bào chủ chứa axit nucleic theo mục [19];

[21] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, kháng thể đa đặc hiệu, kháng thể đặc hiệu kép, hoặc phân tử liên kết kháng nguyên, trong đó phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo mục [20] sao cho tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, kháng thể đa đặc hiệu, kháng thể đặc hiệu kép,

hoặc phân tử liên kết kháng nguyên;

[22] dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10], [11], hoặc [16], hoặc phân tử liên kết kháng nguyên theo mục bất kỳ trong số các mục từ [12] đến [15], và chất mang dược dụng;

[23] dược phẩm theo mục [22], được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu;

[24] dược phẩm theo mục [23], trong đó sự chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu là bệnh phát triển và/hoặc tiến triển do sự suy giảm hoặc thiếu hụt hoạt động của yếu tố đông máu VIII và/hoặc yếu tố đông máu VIII đã được hoạt hoá;

[25] dược phẩm theo mục [24], trong đó bệnh phát triển và/hoặc tiến triển do sự suy giảm hoặc thiếu hụt hoạt động của yếu tố đông máu VIII và/hoặc yếu tố đông máu VIII đã được hoạt hoá là bệnh rối loạn đông máu A, bệnh có sự xuất hiện của chất ức chế chống lại yếu tố đông máu VIII và/hoặc yếu tố đông máu VIII đã được hoạt hoá, bệnh rối loạn đông máu mắc phải, hoặc bệnh von Willebrand.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các mục dưới đây:

[26] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10], [11], hoặc [16], hoặc phân tử liên kết kháng nguyên theo mục bất kỳ trong số các mục từ [12] đến [15], để sử dụng làm thuốc;

[27] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo

mục [10] hoặc [11], được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu;

[28] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10] hoặc [11], được sử dụng để thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII;

[29] việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10] hoặc [11] trong sản xuất thuốc điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu;

[30] việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10] hoặc [11] trong sản xuất thuốc thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII ;

[31] phương pháp điều trị cho cá thể bị chảy máu, có bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10] hoặc [11]; và

[32] phương pháp thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII trong cá thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [9], kháng thể đa đặc hiệu theo mục [10], hoặc kháng thể đặc hiệu kép theo mục [10] hoặc [11] để thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII .

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các mục dưới đây:

[33] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [17], phương pháp này bao gồm trong bước (1), bước làm biến đổi axit nucleic sao cho các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong nhóm (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) và axit aspartic (D); và

(Y) lysin (K), arginin (R), và histidin (H);

[34] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [17] hoặc [33], phương pháp này còn bao gồm trong bước (1), bước làm biến đổi axit nucleic sao cho hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau;

[35] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [34], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau là một tập hợp bất kỳ của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) hoặc (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat; và

(b) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat;

[36] phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên theo mục [34] hoặc [35], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được

bao gồm trong tập hợp (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) và axit aspartic (D); và

(Y) lysin (K), arginin (R), và histidin (H);

[37] phương pháp theo mục [18], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong tập hợp (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) và axit aspartic (D); và

(Y) lysin (K), arginin (R), và histidin (H);

[38] phương pháp theo mục [18] hoặc [37], trong đó còn có hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau;

[39] phương pháp theo mục [38], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau là một tập hợp bất kỳ của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) hoặc (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat; và

(b) gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nặng ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat; và

[40] phương pháp theo mục [38] hoặc [39], trong đó các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong tập hợp (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) và axit aspartic (D); và

(Y) lysin (K), arginin (R), và histidin (H).

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các mục dưới đây:

[41] phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7], là phân tử bất kỳ trong số các phân tử từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84 (QH01/QL21//JH01/JL01);

(b) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84 (QH02/QL22//JH01/JL01);

(c) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH03/QL23//JH02/JL02);

(d) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH03/QL24//JH02/JL02);

(e) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86 (QH02/QL22//JH03/JL03);

(f) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 76, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 87 (QH02/QL22//JH04/JL04);

(g) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH02/QL22//JH02/JL02);

(h) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 65, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH04/QL25//JH02/JL02);

(i) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH04/QL26//JH02/JL02);

(j) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL26//JH05/JL05);

(k) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL28//JH05/JL05);

(l) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 (QH04/QL28//JH06/JL06);

(m) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL29//JH05/JL05);

(n) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 (QH04/QL29//JH06/JL06);

(o) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (QH06/QL30//JH07/JL07);

(p) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 80, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91 (QH04/QL31//JH08/JL08);

(q) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (QH06/QL32//JH07/JL07);

(r) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92 (QH06/QL32//JH09/JL09);

(s) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93 (QH06/QL30//JH10/JL10);

(t) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 105, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 72, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 (QH07/QL33//JH11/JL11);

(u) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t); và

(v) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu cạnh tranh liên kết với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t); và

[42] kháng thể đặc hiệu kép chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X, trong đó kháng thể đặc hiệu kép là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền

biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84 (QH01/QL21//JH01/JL01);

(b) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84 (QH02/QL22//JH01/JL01);

(c) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH03/QL23//JH02/JL02);

(d) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH03/QL24//JH02/JL02);

(e) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75, và miền

biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86 (QH02/QL22//JH03/JL03);

(f) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 76, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 87 (QH02/QL22//JH04/JL04);

(g) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH02/QL22//JH02/JL02);

(h) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 65, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH04/QL25//JH02/JL02);

(i) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền

biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85 (QH04/QL26//JH02/JL02);

(j) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL26//JH05/JL05);

(k) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL28//JH05/JL05);

(l) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 (QH04/QL28//JH06/JL06);

(m) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền

biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88 (QH04/QL29//JH05/JL05);

(n) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 (QH04/QL29//JH06/JL06);

(o) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (QH06/QL30//JH07/JL07);

(p) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 80, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91 (QH04/QL31//JH08/JL08);

(q) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền

biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (QH06/QL32//JH07/JL07);

(r) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92 (QH06/QL32//JH09/JL09);

(s) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93 (QH06/QL30//JH10/JL10);

(t) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 105, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 72, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 (QH07/QL33//JH11/JL11);

(u) kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t); và

(v) kháng thể đặc hiệu kép cạnh tranh liên kết với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

**Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig. 1 thể hiện khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) của kháng thể đặc hiệu kép có các chuỗi L mới.

Fig. 2 thể hiện các hiệu quả mà hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX có thể có trong việc hoạt hoá FX.

Fig. 3 thể hiện biểu đồ hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX với hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, gây ra bởi các biến đổi chuỗi H và chuỗi L mới.

Fig. 4-1 thể hiện tính phụ thuộc nồng độ của hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong kháng thể đặc hiệu kép có sự kết hợp của các biến đổi chuỗi H và chuỗi L.

Fig. 4-2 thể hiện tính phụ thuộc nồng độ của hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong kháng thể đặc hiệu kép có sự kết hợp của các biến đổi chuỗi H và chuỗi L.

Fig. 5 thể hiện các lượng sản sinh thrombin tối đa (chiều cao đỉnh) cho các kháng thể đặc hiệu kép có sự kết hợp của các biến đổi chuỗi H và chuỗi L trong thử nghiệm sản sinh thrombin.

Fig. 6 thể hiện khả năng liên kết ECM của kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 7 thể hiện dược động học kháng thể của kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 8 thể hiện các loại cặp đôi không phù hợp có thể được biểu hiện.

Fig. 9-1 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX: cation exchange chromatography) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-2 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-3 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-4 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-5 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-6 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-7 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-8 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-9 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-10 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-11 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-12 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-13 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-14 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-15 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-16 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-17 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-18 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-19 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 9-20 thể hiện số liệu từ phân tích sắc ký trao đổi cation (CIEX) cho kháng thể đặc hiệu kép tạo ra.

Fig. 10 thể hiện kết quả đo hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của kháng thể đặc hiệu kép có các chuỗi L mới.

**Mô tả chi tiết sáng chế**

I. Định nghĩa

"Khung nhận của người" với các mục đích ở đây là khung bao gồm trình tự axit amin của khung vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) hoặc khung vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) có nguồn gốc từ khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người, như được định nghĩa dưới đây. Khung nhận của người "có nguồn gốc từ" khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người có thể bao gồm cùng một trình tự axit amin của chúng, hoặc nó có thể bao gồm các thay đổi trong trình tự axit amin. Trong một số phương án, số lượng các thay đổi axit amin 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 nhận của người VL là đồng nhất về trình tự với trình tự khung globulin miễn dịch VL của người hoặc trình tự khung liên ứng của người.

"Ái lực" dùng để chỉ độ mạnh của toàn bộ các tương tác không đồng hóa trị giữa một vị trí liên kết của phân tử (ví dụ, kháng thể) và đối tác liên kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). Trừ khi có quy định khác, như được sử dụng ở đây, "ái lực liên kết" dùng để chỉ ái lực liên kết nội tại phản ánh sự tương tác 1:1 giữa các thành viên của cặp liên kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên). Ái lực của phân tử X đối với đối tác Y của nó thường có thể được thể hiện bằng hằng số phân ly (Kd). Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm cả các phương pháp được mô tả ở đây. Các phương án được lấy làm ví dụ và minh họa cụ thể để đo ái lực liên kết được mô tả dưới đây.

Kháng thể "thuần thục về ái lực" dùng đề cập đến kháng thể có một hoặc nhiều thay đổi trong một hoặc nhiều vùng siêu biến đổi (HVR: hypervariable region), so với kháng thể mẹ không có các thay đổi này, các thay đổi này tạo ra sự cải thiện về ái lực của kháng thể này đối với kháng nguyên.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được mô tả ở đây có vị trí liên kết

kháng nguyên thứ nhất và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai có thể liên kết đặc hiệu với ít nhất hai loại kháng nguyên khác nhau.

Theo một phương án, vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chỉ cần tương ứng có hoạt tính liên kết với yếu tố đông máu IX (FIX) và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá (FIXa), và yếu tố đông máu X (FX), và các ví dụ bao gồm các ví trị cần thiết cho khả năng liên kết với kháng nguyên, như các kháng thể, các phân tử khung (các phân tử giống kháng thể), hoặc các peptit, hoặc các đoạn chứa các vị trí này. Phân tử khung là phân tử thể hiện chức năng bằng cách liên kết với phân tử đích, và polypeptit bất kỳ có thể được sử dụng miễn sao nó là polypeptit ổn định về cấu hình mà có thể liên kết với ít nhất một kháng nguyên đích. Ví dụ về polypeptit này bao gồm vùng biến đổi kháng thể, fibronectin (WO 2002/032925), miền protein A (WO 1995/001937), LDL miền thụ thể A (WO 2004/044011, WO 2005/040229), ankyrin (WO 2002/020565), và các chất tương tự, và cả các phân tử được mô tả trong các tài liệu của Nygren *et al.* (Current Opinion in Structural Biology, 7: 463-469 (1997); và Journal of Immunol Methods, 290: 3-28 (2004)), Binz *et al.* (Nature Biotech 23: 1257-1266 (2005)), và Hosse *et al.* (Protein Science 15: 14-27 (2006)). Ngoài ra, như được đề cập trong Curr Opin Mol Ther. 2010 Aug; 12(4): 487-95 và Drugs. 2008; 68(7): 901-12, các phân tử peptit có thể liên kết với các kháng nguyên đích có thể được sử dụng.

Polypeptit theo sáng chế thường đề cập đến protein và peptit có độ dài khoảng mười axit amin hoặc dài hơn. Thông thường, các polypeptit có nguồn gốc từ sinh vật, nhưng không giới hạn cụ thể ở đó, và ví dụ, chúng có thể bao gồm trình tự được thiết kế nhân tạo. Chúng có thể còn là các polypeptit bất kỳ xuất hiện trong tự nhiên, hoặc các polypeptit tổng hợp, các polypeptit tái tổ hợp, hoặc tương tự. Ngoài ra, các đoạn của các polypeptit nêu trên cũng được bao gồm trong các polypeptit theo sáng chế.

Theo một phương án, các ví dụ về phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bao gồm các kháng thể đa đặc hiệu có thể liên kết đặc hiệu với ít nhất hai kháng nguyên khác nhau hoặc hai epitop khác nhau trên cùng một kháng nguyên.

Theo một phương án, kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế là kháng thể đặc hiệu kép (BsAb: bispecific antibody) (kháng thể này có thể còn được gọi là kháng thể đặc hiệu đôi).

Ở đây, các thuật ngữ "hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII", "hoạt tính thay thế FVIII", và "hoạt tính thay thế chức năng của FVIII" được sử dụng với nghĩa giống nhau và đề cập đến hoạt tính liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để thúc đẩy sự hoạt hoá của FX (thúc đẩy sự sản sinh yếu tố đông máu X (FXa) đã được hoạt hoá).

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX.

Theo các phương án nhất định, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII là kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX là kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX.

Thuật ngữ "kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX" đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép có thể liên kết bằng đủ ái lực với FIX và/hoặc FIXa, và FX, sao cho kháng thể này có ích như chất chẩn đoán và/hoặc trị liệu hướng đích FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo một phương án, mức độ liên kết của kháng thể đặc hiệu kép liên kết FIX và/hoặc FIXa và Fx với protein không phải FIX, protein không

phải FIXa, hoặc protein không phải FX, không có liên quan, là nhỏ hơn 10% so với mức độ liên kết của kháng thể này với FIX và/hoặc FIXa, và FX đo được (ví dụ, bằng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA)). Theo các phương án nhất định, kháng thể liên kết FIX và/hoặc FIXa và FX có hằng số phân ly (Kd) bằng 100 μM hoặc nhỏ hơn, 10 μM hoặc nhỏ hơn, 1 μM hoặc nhỏ hơn, 100 nM hoặc nhỏ hơn, 10 nM hoặc nhỏ hơn, 1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,01 nM hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,001 nM hoặc nhỏ hơn (ví dụ, $10^{-5}$ M hoặc nhỏ hơn, ví dụ, từ $10^{-5}$ M đến $10^{-10}$ M, ví dụ, từ $10^{-6}$ M đến $10^{-10}$ M). Theo các phương án nhất định, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX, liên kết với các epitop trong FIX, FIXa, và FX mà là tương ứng bảo toàn trong số FIX, FIXa, và FX từ các loài khác nhau.

Theo sáng chế, trong các phương án nhất định, thuật ngữ "kháng thể" được sử dụng đồng nghĩa với "phân tử liên kết kháng nguyên". Theo sáng chế, các thuật ngữ "kháng thể" và "phân tử liên kết kháng nguyên" được sử dụng với nghĩa rộng nhất, và bao gồm kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, và các biến thể của kháng thể (như kháng thể khảm, kháng thể được nhân hoá, thể nhỏ (kháng thể có khối lượng phân tử nhỏ) (bao gồm các đoạn kháng thể mà các phân tử khác có thể được tuỳ ý bổ sung vào), và kháng thể đa đặc hiệu), miễn sao nó thể hiện hoạt tính liên kết kháng nguyên hoặc hoạt tính sinh học mong muốn. Các ví dụ về "kháng thể" hoặc "phân tử liên kết kháng nguyên" theo sáng chế bao gồm phân tử trong đó khung liên kết HAS đã được bổ sung vào Fab (kháng thể trong đó chỉ phần Fab là bình thường). Ngoài ra, theo sáng chế, "kháng thể" cũng có thể là polypeptit hoặc multime khác loại. Kháng thể được ưu tiên là kháng thể đơn dòng, kháng thể khảm, kháng thể được nhân hoá, kháng thể người, kháng thể dung hợp Fc, và thể nhỏ như đoạn kháng thể.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể" đề cập đến protein liên kết có vị trí liên kết kháng nguyên. Các thuật ngữ "vị trí liên kết" và "vị trí liên kết kháng

nguyên" như được sử dụng ở đây đề cập đến một vùng của phân tử kháng thể mà kháng nguyên thực sự liên kết với. Thuật ngữ "vị trí liên kết kháng nguyên" bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể (VH) và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể (VL) (cặp VH/VL).

"Đoạn kháng thể" đề cập đến phân tử không phải là kháng thể nguyên vẹn mà bao gồm một phần của kháng thể nguyên vẹn liên kết kháng nguyên mà kháng thể nguyên vẹn này liên kết vào. Các ví dụ về đoạn kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; các thể kép; các kháng thể mạch thẳng; các phân tử kháng thể chuỗi đơn (ví dụ, scFv); và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ đoạn kháng thể.

"Kháng thể liên kết với cùng epitop" với kháng thể tham chiếu đề cập đến kháng thể phong bế 50% hoặc hơn sự liên kết của kháng thể tham chiếu với kháng nguyên của nó trong thử nghiệm cạnh tranh, và ngược lại, kháng thể tham chiếu phong bế 50% hoặc hơn sự liên kết của kháng thể này với kháng nguyên của nó trong thử nghiệm cạnh tranh. Thử nghiệm cạnh tranh điển hình được đưa ra trong bản mô tả này.

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

"Lớp" của kháng thể được đề cập đến loại miền hằng định hoặc vùng hằng định của chuỗi nặng của nó. Có năm lớp kháng thể chính: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM và một số lớp trong số này có thể còn được phân chia ra thành các phân lớp (các isotyp), ví dụ như, $IgG_1$, $IgG_2$, $IgG_3$, $IgG_4$, $IgA_1$và $IgA_2$. Các vùng hằng định chuỗi nặng tương ứng với các lớp globulin miễn dịch khác nhau được gọi một cách tương ứng là alpha, delta, epsilon, gama, và mu.

Thuật ngữ "lượng có hiệu quả" của một chất, ví dụ, dược phẩm, chỉ một lượng có hiệu quả ở liều lượng và trong các khoảng thời gian cần thiết, để đạt được kết quả trị liệu hoặc phòng ngừa mong muốn.

Thuật ngữ "vùng Fc" ở đây được sử dụng để định nghĩa vùng đầu cùng C của chuỗi nặng globulin miễn dịch chứa ít nhất một phần của vùng hằng định. Thuật ngữ này bao gồm các vùng Fc của trình tự tự nhiên và các vùng Fc biến đổi. Theo một phương án, vùng Fc của chuỗi nặng IgG người kéo dài từ Cys226, hoặc từ Pro230, đến đầu cùng carboxyl của chuỗi nặng này. Tuy nhiên, lysin ở đầu cùng C (Lys447) hoặc glyxin-lysin (Gly446-Lys447) trong vùng Fc có thể có hoặc không. Trừ khi có quy định khác ở đây, việc đánh số các gốc axit amin trong vùng Fc hoặc vùng hằng định là theo hệ thống đánh số EU, còn được gọi là chỉ số EU, như được mô tả trong Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, phiên bản thứ 5, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

"Khung" hoặc "FR" đề cập đến các gốc trong vùng biến đổi mà không phải là các gốc trong vùng siêu biến đổi (HVR). FR của vùng biến đổi thường bao gồm bốn miền FR: FR1, FR2, FR3, và FR4. Theo đó, các trình tự HVR và FR thường xuất hiện trong VH (hoặc VL) theo trình tự sau đây: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

Thuật ngữ "kháng thể có độ dài đầy đủ", "kháng thể nguyên vẹn", và "toàn bộ kháng thể" được sử dụng ở đây có thể thay thế lẫn nhau để chỉ kháng thể có cấu trúc gần như tương tự với cấu trúc kháng thể tự nhiên hoặc có các chuỗi nặng chứa vùng Fc như được xác định ở đây.

Các thuật ngữ "tế bào chủ", "dòng tế bào chủ" và "mẫu nuôi cấy tế bào chủ" được sử dụng thay thế lẫn nhau và dùng để chỉ các tế bào được đưa vào axit nucleic

ngoại sinh, bao gồm cả thế hệ con của các tế bào này. Các tế bào chủ bao gồm "các thể biến nạp" và "các tế bào được biến nạp", mà bao gồm tế bào đã được biến nạp sơ cấp và thế hệ có nguồn gốc từ chúng bất kể số lần cấy chuyển. Thế hệ con có thể không đồng nhất hoàn toàn về hàm lượng axit nucleic so với tế bào mẹ, tuy nhiên có thể chứa các đột biến. Thế hệ con đột biến có cùng chức năng hoặc hoạt tính sinh học với chức năng hoặc hoạt tính sinh học được sàng lọc hoặc lựa chọn trong tế bào đã được biến nạp ban đầu được bao gồm ở đây.

"Kháng thể người" là kháng thể có trình tự axit amin tương ứng với trình tự của kháng thể được sản sinh bởi người hoặc tế bào của người hoặc có nguồn gốc từ nguồn không phải người mà sử dụng các nguồn kháng thể người hoặc các trình tự mã hóa kháng thể người khác. Khái niệm này về kháng thể người đặc biệt loại trừ kháng thể được nhân hoá chứa các gốc liên kết kháng nguyên không phải của người.

"Khung liên ứng của người" là khung thể hiện các gốc axit amin xuất hiện phổ biến nhất trong quá trình chọn lọc các trình tự khung VL hoặc VH của globulin miễn dịch người. Thông thường, việc chọn lọc các trình tự VL hoặc VH của globulin miễn dịch người là từ phân nhóm của các trình tự miền biến đổi. Phân nhóm của các trình tự thường là phân nhóm như trong Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, phiên bản thứ 5, công bố NIH số 91-3242, Bethesda MD (1991), các quyển 1-3. Theo một phương án, đối với VL, phân nhóm này là phân nhóm kapa I như trong Kabat et al., *supra.* Theo một phương án, đối với VH, phân nhóm này là phân nhóm III như trong Kabat et al., *supra.*

Kháng thể "được nhân hoá" dùng để chỉ kháng thể khảm chứa các gốc axit amin từ các HVR không phải của người và các gốc axit amin từ các FR của người. Theo một số phương án nhất định, kháng thể được nhân hoá sẽ chứa gần như tất cả của ít nhất một, và thường là hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc gần như tất cả các

HVR (ví dụ, CDR) tương ứng với các HVR của kháng thể không phải của người, và tất cả hoặc gần như tất cả các FR tương ứng với các FR của kháng thể người. Kháng thể được nhân hóa tùy ý có thể bao gồm ít nhất một phần của vùng hằng định kháng thể có nguồn gốc từ kháng thể người. "Dạng được nhân hoá" của kháng thể, ví dụ, kháng thể không phải của người, đề cập đến kháng thể đã trải qua quá trình nhân hoá.

Thuật ngữ "vùng siêu biến đổi" hay "HVR" như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến từng vùng trong các vùng của miền biến đổi của kháng thể mà có trình tự siêu biến đổi ("vùng xác định bổ sung" hay "CDR") và/hoặc tạo các vòng đã được xác định cấu trúc ("các vòng siêu biến đổi") và/hoặc chứa các gốc tiếp xúc kháng nguyên ("các điểm tiếp xúc kháng nguyên"). Các kháng thể thường bao gồm HVR: ba trong VH (H1, H2, H3), và ba trong VL (L1, L2, L3). Các HVR điển hình ở đây bao gồm:

(a) các vòng siêu biến đổi xuất hiện ở các gốc axit amin 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), và 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, *J. Biol.* 196:901-917 (1987));

(b) Các CDR xuất hiện ở các gốc axit amin 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), và 95-102 (H3) (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, phiên bản thứ 5, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

(c) các điểm tiếp xúc kháng nguyên xuất hiện ở các gốc axit amin 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), và 93-101 (H3) (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)); và

(d) các dạng kết hợp của (a), (b), và/hoặc (c), bao gồm các gốc axit amin HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2),

93-102 (H3), và 94-102 (H3).

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

"Thể liên hợp miễn dịch" là kháng thể được liên hợp với một hoặc nhiều phân tử khác loại, bao gồm nhưng không giới hạn ở chất độc tế bào.

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

Kháng thể "được phân lập" là kháng thể mà đã được tách khỏi hợp phần của môi trường tự nhiên của nó. Trong một số phương án, kháng thể được tinh chế đến độ tinh khiết lớn hơn 95% hoặc 99% như được xác định bởi, ví dụ, phương pháp điện di (ví dụ, SDS-PAGE, hội tụ đẳng điện (IEF: isoelectric focusing), điện di mao quản) hoặc sắc ký (ví dụ, trao đổi ion hoặc HPLC pha đảo). Để xem lại về các phương pháp đánh giá độ tinh khiết của kháng thể, xem, ví dụ, Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

Axit nucleic "được phân lập" đề cập đến phân tử axit nucleic đã được tách ra khỏi hợp phần của môi trường tự nhiên của nó. Axit nucleic được phân lập bao gồm phân tử axit nucleic được chứa trong tế bào mà thường chứa phân tử axit nucleic này, bất kể phân tử axit nucleic này xuất hiện ngoài nhiễm sắc thể hoặc có vị trí trên nhiễm sắc thể khác với vị trí trên nhiễm sắc thể tự nhiên của nó.

"Axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX" đề cập đến một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể (hoặc các đoạn của chúng), bao gồm (các) phân tử axit nucleic trong một vectơ duy nhất hoặc các vectơ riêng biệt, và (các) phân tử axit nucleic xuất hiện ở một hoặc nhiều vị trí trong tế bào chủ.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" như được sử dụng ở đây đề cập đến kháng thể thu được từ quần thể của các kháng thể gần như đồng nhất, nghĩa là, các kháng thể riêng biệt trong quần thể là đồng nhất và/hoặc liên kết với cùng epitop, ngoại trừ các kháng thể biến thể có thể có, ví dụ, chứa các đột biến có trong tự nhiên hoặc phát sinh trong quá trình tạo ra chế phẩm kháng thể đơn dòng, các biến thể như vậy thường có mặt với lượng nhỏ. Trái ngược với các chế phẩm kháng thể đa dòng, mà thường bao gồm nhiều kháng thể khác nhau kháng lại các thành phần xác định (các epitop) khác nhau, mỗi kháng thể đơn dòng của chế phẩm kháng thể đơn dòng kháng lại một thành phần xác định duy nhất trên kháng nguyên. Do đó, bổ ngữ "đơn dòng" thể hiện đặc điểm của kháng thể là thu được từ quần thể kháng thể gần như đồng nhất, và không được hiểu là đòi hỏi sự sản sinh kháng thể này bằng phương pháp cụ thể bất kỳ. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng để sử dụng theo sáng chế có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở phương pháp lai, phương pháp ADN tái tổ hợp, phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn, và phương pháp sử dụng động vật chuyển gen chứa toàn bộ hoặc một phần của locut globulin miễn dịch người, các phương pháp này và các phương pháp điển hình khác để tạo ra các kháng thể đơn dòng được mô tả ở đây.

"Các kháng thể tự nhiên" đề cập đến các phân tử globulin miễn dịch có trong tự nhiên có các cấu trúc khác nhau. Ví dụ, các kháng thể IgG tự nhiên là các glycoprotein dạng heterotetrame có kích thước khoảng 150000 dalton, bao gồm hai chuỗi nhẹ đồng

nhất và hai chuỗi nặng đồng nhất được liên kết bằng liên kết disulfua. Từ đầu cùng N đến đầu cùng C, mỗi chuỗi nặng có vùng biến đổi (VH), còn được gọi là miền chuỗi nặng biến đổi hoặc miền biến đổi chuỗi nặng, tiếp theo là ba miền hằng định (CH1, CH2 và CH3). Tương tự, từ đầu cùng N đến đầu cùng C, mỗi chuỗi nhẹ có vùng biến đổi (VL), còn được gọi là miền chuỗi nhẹ biến đổi hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ, tiếp theo là miền chuỗi nhẹ hằng định (CL). Chuỗi nhẹ của kháng thể có thể được xếp vào một trong hai loại, được gọi là kapa (κ) và lamda (λ), dựa trên trình tự axit amin trong vùng hằng định của nó.

Thuật ngữ "tờ hướng dẫn sử dụng" được sử dụng để chỉ các hướng dẫn thường nằm trong các gói sản phẩm trị liệu thương mại, mà chứa thông tin về các chỉ định, công dụng, liều lượng, cách sử dụng, liệu pháp kết hợp, các chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng các sản phẩm trị liệu này.

"Tỷ lệ phần trăm (%) đồng nhất trình tự axit amin" so với trình tự polypeptit tham chiếu được định nghĩa là tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin trong trình tự ứng viên mà đồng nhất với các gốc axit amin trong trình tự polypeptit tham chiếu, sau khi sắp xếp thẳng hàng các trình tự và đưa vào các khoảng trống, nếu cần thiết, để đạt được tỉ lệ phần trăm đồng nhất trình tự tối đa, và không xem các đột biến thế bảo thủ bất kỳ là một phần của độ đồng nhất trình tự. Việc sắp xếp thẳng hàng với mục đích xác định tỷ lệ phần trăm đồng nhất trình tự axit amin có thể đạt được theo nhiều cách khác nhau trong khả năng của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách sử dụng phần mềm máy tính công cộng sẵn có như BLAST, BLAST-2, ALIGN, phần mềm Megalign (DNASTAR), hoặc GENETYX (nhãn hiệu đã được đăng ký) (Genetyx Co., Ltd.). Người có hiểu thức trung bình về lĩnh vực này có thể xác định các tham số thích hợp cho việc sắp xếp thẳng hàng các trình tự, bao gồm các thuật toán bất kỳ cần thiết để đạt được sự sắp xếp thẳng hàng tối đa trên toàn

bộ độ dài đầy đủ của các trình tự được so sánh.

Chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2 được viết bởi Genentech, Inc., và mã nguồn đã được nộp với hồ sơ người sử dụng tại Cục Bản quyền Mỹ, Washington D.C., 20559, mà tại đó nó được đăng ký theo Giấy Đăng ký Bản quyền Mỹ số TXU510087. Chương trình ALIGN-2 là chương trình công cộng có sẵn từ Genentech, Inc., South San Francisco, California, hoặc có thể được biên soạn từ mã nguồn. Chương trình ALIGN-2 nên được biên soạn để sử dụng trên hệ điều hành UNIX, bao gồm UNIX V4.0D kỹ thuật số. Tất cả các tham số so sánh trình tự được thiết lập bằng chương trình ALIGN-2 và không thay đổi. Trong các tình huống, trong đó ALIGN-2 được sử dụng để trình tự axit amin, thì % đồng nhất trình tự axit amin của trình tự axit amin A đã cho so với, với hoặc đối với trình tự axit amin B đã cho (câu này có thể được diễn đạt theo cách khác là trình tự axit amin A đã cho có hoặc chứa % đồng nhất trình tự axit amin nhất định so với, với hoặc đối với trình tự axit amin B đã cho) được tính như sau:

100 nhân với phân số X/Y

trong đó X là số lượng gốc axit amin được tính điểm là các bắt cặp đồng nhất bởi chương trình sắp xếp thẳng hàng trình tự ALIGN-2 theo sự sắp xếp thẳng hàng A và B của chương trình này, và trong đó Y là tổng số gốc axit amin trong B. Sẽ được hiểu rõ là khi độ dài trình tự axit amin A không bằng với độ dài của trình tự axit amin B, thì % đồng nhất trình tự axit amin của A so với B sẽ không bằng với % đồng nhất trình tự axit amin của B so với A. Trừ khi có quy định khác, tất cả các giá trị % đồng nhất trình tự axit amin được sử dụng ở đây là thu được như được mô tả trong ngay đoạn tiếp theo bằng cách sử dụng chương trình máy tính ALIGN-2 .

Thuật ngữ "dược phẩm" đề cập đến chế phẩm ở dạng mà cho phép hoạt tính

sinh học của thành phần hoạt tính được chứa trong đó trở nên có hiệu quả, và chế phẩm này không chứa các thành phần bổ sung mà gây độc đến mức không thể chấp nhận được cho đối tượng sẽ được sử dụng chế phẩm này.

"Chất mang dược dụng" đề cập đến thành phần trong dược phẩm, không phải là thành phần hoạt tính, thành phần này là không gây độc cho đối tượng. Chất mang dược dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất đệm, tá dược, chất ổn định, hoặc chất bảo quản.

Các thuật ngữ "FIX", "FIXa", và "FX", được sử dụng ở đây, tương ứng đề cập đến "FIX" tự nhiên, "FIXa" tự nhiên, và "FX" tự nhiên bất kỳ, có nguồn gốc từ động vật có xương sống, bao gồm động vật có vú như linh trưởng (ví dụ, con người) và động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt và chuột cống), trừ khi có quy định khác. Các thuật ngữ bao gồm "FIX", "FIXa", và "FX" không được xử lý "độ dài đầy đủ" cũng như là dạng bất kỳ của "FIX", "FIXa", và "FX" được tạo ra trong quá trình xử lý trong tế bào. Các thuật ngữ này cũng bao gồm các biến thể có trong tự nhiên của "FIX", "FIXa", và "FX", ví dụ, các biến thể cắt nối hoặc các biến thể alen.

Như được sử dụng ở đây, "việc điều trị" (và các dạng thay đổi về ngữ pháp của nó như "điều trị" hoặc "đang điều trị") đề cập đến sự can thiệp lâm sàng nhằm cố gắng thay đổi tiến trình tự nhiên của cá thể đang được điều trị, và có thể được thực hiện để phòng ngừa hoặc trong suốt quá trình mắc bệnh lâm sàng. Các tác dụng mong muốn của việc điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ngăn ngừa sự phát bệnh hoặc tái phát bệnh, giảm nhẹ các triệu chứng, giảm nhẹ các hậu quả bệnh lý trực tiếp hoặc gián tiếp bất kỳ của bệnh, ngăn ngừa di căn, làm giảm tốc độ tiến triển của bệnh, cải thiện hoặc làm dịu tình trạng bệnh, và sự thuyên giảm hoặc tiên lượng bệnh được cải thiện. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế được sử dụng để trì hoãn sự phát triển của bệnh hoặc để làm chậm sự tiến triển của bệnh.

Thuật ngữ "vùng biến đổi" hoặc "miền biến đổi" đề cập đến miền chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể liên quan đến khả năng liên kết của kháng thể với kháng nguyên. Các miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (tương ứng là VH và VL) của kháng thể tự nhiên thường có cấu trúc giống nhau, với mỗi miền bao gồm bốn vùng khung (FR) được bảo toàn và ba vùng siêu biến đổi (HVR) (xem, ví dụ, Kindt et al. *Kuby Immunology*, phiên bản thứ 6, W.H. Freeman và Co., trang 91 (2007).) Một miền VH hoặc VL duy nhất có thể là đủ để tạo ra tính đặc hiệu liên kết kháng nguyên. Ngoài ra, các kháng thể liên kết với một kháng nguyên cụ thể có thể được phân lập một cách tương ứng bằng cách sử dụng miền VH hoặc miền VL từ kháng thể liên kết với kháng nguyên này để sàng lọc thư viện chứa miền VL hoặc VH bổ sung. Xem, ví dụ, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).

Thuật ngữ "vectơ", như được sử dụng ở đây, đề cập đến phân tử axit nucleic có khả năng nhân lên một axit nucleic khác liên kết với nó. Thuật ngữ này bao gồm vectơ dưới dạng cấu trúc axit nucleic tự sao chép cũng như vectơ được kết hợp vào bộ gen của tế bào chủ mà nó được đưa vào. Một số vectơ nhất định có khả năng điều khiển sự biểu hiện của các axit nucleic được liên kết hoạt động với chúng. Các vectơ này được đề cập ở đây là "vectơ biểu hiện".

II. Chế phẩm và phương pháp

Theo một khía cạnh, sáng chế được dựa trên, một phần, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là có lợi, ví dụ, để điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu.

A. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu điển hình liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được phân lập mà liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo các phương án nhất định, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu là kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX, và kháng thể đặc hiệu kép này có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII.

Kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX, ACE910 (Emicizumab) là kháng thể được mô tả trong tài liệu patent (WO 2012/067176) và được mô tả dưới đây.

Kháng thể này là kháng thể đặc hiệu kép trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ ba được kết hợp và polypeptit thứ hai và polypeptit thứ tư được kết hợp, kháng thể đặc hiệu kép chứa polypeptit thứ nhất là chuỗi H chứa các trình tự axit amin HVR-H1, HVR-H2, và HVR-H3 tương ứng nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 1 đến SEQ ID NO: 3 (các CDR trong chuỗi H chứa Q499); polypeptit thứ hai là chuỗi H chứa các trình tự axit amin HVR-H1, HVR-H2, và HVR-H3 tương ứng nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 6 (các CDR trong chuỗi H chứa J327); và các polypeptit thứ ba và thứ tư thường có chung chuỗi L chứa các trình tự axit amin HVR-L1, HVR-L2, và HVR-L3 tương ứng nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9 (các CDR trong chuỗi L chứa L404).

Cụ thể hơn, kháng thể này là kháng thể đặc hiệu kép trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ ba được kết hợp và polypeptit thứ hai và polypeptit thứ tư được kết hợp, kháng thể đặc hiệu kép này chứa polypeptit thứ nhất là chuỗi H chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi H nêu trong SEQ ID NO: 45; polypeptit thứ hai là chuỗi

H chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi H nêu trong SEQ ID NO: 46; và các polypeptit thứ ba và thứ tư thường có chung chuỗi L chứa trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi L nêu trong SEQ ID NO: 47.

Cụ thể hơn, kháng thể này là kháng thể đặc hiệu kép trong đó polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ ba được kết hợp và polypeptit thứ hai và polypeptit thứ tư được kết hợp, kháng thể đặc hiệu kép này chứa polypeptit thứ nhất là chuỗi H chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10; polypeptit thứ hai là chuỗi H chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 11; và các polypeptit thứ ba và thứ tư thường có chung chuỗi L chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12 (Q499-z121/J327-z119/L404-k).

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có chức năng thay thế chức năng của FVIII, trong đó phân tử này có vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai liên kết với FX,

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (Q499) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (QNK131) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 163, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 164, và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng và

miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (J327) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (JNL095) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 166, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167;

trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay thế bằng các axit amin khác, được loại bỏ, hoặc được gắn xen trong ít nhất một trong các HVR.

Theo các phương án nhất định, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có chức năng thay thế chức năng của FVIII.

Ngoài ra, theo các phương án khác, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) giảm so với ACE910 (Emicizumab). Ở đây, thuật ngữ "có khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) giảm so với ACE910 (Emicizumab)" có nghĩa là khi độ mạnh liên kết (%) giữa kháng thể kháng idiotyp và ACE910 được đánh dấu được đo bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, và nếu nồng độ của kháng thể được đo là 100 μg/mL, thì tốt hơn là độ mạnh liên kết giảm 10% hoặc hơn, tốt hơn nữa là giảm 20% hoặc hơn, và còn tốt hơn nữa là giảm 30% hoặc hơn.

Ngoài ra, theo các phương án khác, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu

tố FVIII được tăng cường và hoạt tính cao hơn so với ACE910 (Emicizumab) ngay cả ở nồng độ kháng thể thấp.

Theo các phương án khác, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu gần như không có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX và có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng so với ACE910 (Emicizumab). Ở đây, "gần như không có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX" có nghĩa là độ giảm giá trị OD so với giá trị OD đối chứng là 0,025 hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 0,02 hoặc nhỏ hơn, và tốt hơn nữa là 0,01 hoặc nhỏ hơn, khi giá trị OD được đo bằng cách sử dụng phương pháp được thể hiện trong các ví dụ.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, trong đó ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, trong đó ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, trong đó ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 51,

56, 57, 59, 61, 62, 65, và 102 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, trong đó ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, trong đó:

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất,

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, và 102 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, và

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a, và 96 theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng

một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 31 là histidin, gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 98 là serin, gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại bỏ, gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 26 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 27 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin, gốc axit amin ở vị trí 51 là serin, gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin, gốc axit amin ở vị trí 57 là valin, gốc axit amin ở vị trí 59 là serin, gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 27 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 29 là serin, gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 95a là tyrosin hoặc được loại bỏ, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat.

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, trong đó:

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 31 là histidin, gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 98 là serin, gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại

bỏ, gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất, gốc axit amin ở vị trí 26 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 27 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat;

trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin, gốc axit amin ở vị trí 51 là serin, gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin, gốc axit amin ở vị trí 57 là valin, gốc axit amin ở vị trí 59 là serin, gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin, gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin, hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat; và

trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai, gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin, gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 27 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 29 là serin, gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin, gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic, gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin, gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin, gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic, gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin, gốc axit amin ở vị trí 95a là tyrosin hoặc được loại bỏ, hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, các ví trí nêu trên theo quy ước đánh số Kabat.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là chuỗi nặng miền biến đổi đó bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 168, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 169, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 170 (QH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 171, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 172, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 173 (QH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 176 (QH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 177, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 (QH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 (QH06); hoặc

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 184, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 (QH07).

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là chuỗi nhẹ

miền biến đổi bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 186, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 188 (QL21);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 189, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191 (QL22);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 192, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 193, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 194 (QL23);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 195, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 196, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 (QL24);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 199, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 200 (QL25);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 202, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 203 (QL26);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 204, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 205, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 206 (QL28);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 207, HVR-L2 chứa

trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 208, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 209 (QL29);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 210, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 211, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 212 (QL30);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 213, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 214, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 (QL31);

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 217, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 218 (QL32); hoặc

12) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 219, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 220, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 221 (QL33).

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là chuỗi nặng miền biến đổi đó bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 222, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 223, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 224 (JH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 225, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 226, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 227 (JH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 228, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 229, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 230 (JH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 231, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 232, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 233 (JH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 234, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 235, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 236 (JH05);

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 237, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 238, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 239 (JH06);

7) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 240, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 241, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 242 (JH07);

8) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 243, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 244, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 245 (JH08);

9) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 246, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 247, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 248 (JH09);

10) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 249, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 250, và HVR-H3 chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 251 (JH10); hoặc

11) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 252, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 253, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 254 (JH11).

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là chuỗi nhẹ miền biến đổi bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 255, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 256, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 257 (JL01);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 258, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 259, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 260 (JL02);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 261, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 262, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 263 (JL03);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 264, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 265, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 266 (JL04);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 267, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 268, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 269 (JL05);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 270, HVR-L2 chứa

trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 271, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 272 (JL06);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 273, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 274, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 276, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 277, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 278 (JL08);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 279, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 280, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 281 (JL09);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 282, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 283, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 284 (JL10); hoặc

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 285, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 286, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 287 (JL11).

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 168, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 169, và HVR-H3 chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 170 (QH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 171, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 172, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 173 (QH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 176 (QH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 177, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 (QH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 (QH06); hoặc

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 184, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 (QH07); và

miền biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 186, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 188 (QL21);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 189, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191 (QL22);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 192, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 193, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 194 (QL23);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 195, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 196, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 (QL24);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 199, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 200 (QL25);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 202, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 203 (QL26);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 204, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 205, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 206 (QL28);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 207, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 208, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 209 (QL29);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 210, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 211, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 212 (QL30);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 213, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 214, và HVR-L3 chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 215 (QL31);

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 217, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 218 (QL32); hoặc

12) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 219, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 220, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 221 (QL33); và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

1) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 222, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 223, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 224 (JH01);

2) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 225, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 226, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 227 (JH02);

3) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 228, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 229, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 230 (JH03);

4) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 231, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 232, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 233 (JH04);

5) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 234, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 235, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 236 (JH05);

6) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 237, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 238, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 239 (JH06);

7) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 240, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 241, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 242 (JH07);

8) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 243, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 244, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 245 (JH08);

9) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 246, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 247, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 248 (JH09);

10) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 249, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 250, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 251 (JH10); hoặc

11) HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 252, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 253, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 254 (JH11); và

miền biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm:

1) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 255, HVR-L2 chứa

trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 256, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 257 (JL01);

2) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 258, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 259, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 260 (JL02);

3) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 261, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 262, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 263 (JL03);

4) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 264, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 265, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 266 (JL04);

5) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 267, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 268, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 269 (JL05);

6) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 270, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 271, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 272 (JL06);

7) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 273, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 274, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 276, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 277, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 278 (JL08);

9) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 279, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 280, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 281 (JL09);

10) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 282, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 283, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 284 (JL10); hoặc

11) HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 285, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 286, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 287 (JL11).

Theo một phương án của sáng chế, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có chức năng thay thế chức năng của yếu tố đông máu VIII, trong đó phân tử này có vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X, trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng (Q499) nêu trong SEQ ID NO: 45 và miền biến đổi chuỗi nhẹ (QNK131) nêu trong SEQ ID NO: 13, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng (J327) nêu trong SEQ ID NO: 46 và miền biến đổi chuỗi nhẹ (JNL095) nêu trong SEQ ID NO: 31, và trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay thế bằng các axit amin khác hoặc được loại bỏ trong ít nhất một trong các miền biến đổi chuỗi nặng hoặc các miền biến đổi chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế, ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e, theo quy ước đánh số Kabat,

được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế, ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95, và 96, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế, ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b, và 102, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế, ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a, và 96, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế:

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b, và 100e, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất;

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95, và 96, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được gắn xen trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất;

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b, và 102, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai; và

ít nhất một gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin ở vị trí 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a, và 96, theo quy ước đánh số Kabat, được thay thế bằng một axit amin khác hoặc được loại bỏ trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế, gốc axit amin ở vị trí 31 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là histidin; gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin; gốc axit amin ở vị trí 39 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 98 là serin; gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại bỏ; gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin; và gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất theo sáng chế, gốc axit amin ở vị trí 26 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là threonin; gốc axit

amin ở vị trí 27 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 38 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 45 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 60 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 70 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 76 là asparagin; gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 80 là prolin hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 83 là methionin hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 85 là threonin; gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin; hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế, gốc axit amin ở vị trí 28 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin; gốc axit amin ở vị trí 39 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 51 là serin; gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin; gốc axit amin ở vị trí 57 là valin; gốc axit amin ở vị trí 59 là serin; gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin; gốc axit amin ở vị trí 67 là leuxin; gốc axit amin ở vị trí 73 là isoleuxin; gốc axit amin ở vị trí 82b là axit glutamic; hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai theo sáng chế, gốc axit amin ở vị trí 3 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 8 là prolin; gốc axit amin ở vị trí 15 là leuxin; gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin; gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 27 là

glutamin; gốc axit amin ở vị trí 29 là serin; gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 38 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 48 là isoleuxin; gốc axit amin ở vị trí 49 là tyrosin; gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin; gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin; gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 95a là tyrosin hoặc được loại bỏ; hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế:

gốc axit amin ở vị trí 31 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là histidin; gốc axit amin ở vị trí 34 là alanin; gốc axit amin ở vị trí 39 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 97 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 98 là serin; gốc axit amin ở vị trí 100 là axit aspartic hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 100a là axit aspartic hoặc được loại bỏ; gốc axit amin ở vị trí 100b là alanin hoặc histidin; và gốc axit amin ở vị trí 100e là histidin hoặc isoleuxin, trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất;

gốc axit amin ở vị trí 26 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là threonin; gốc axit amin ở vị trí 27 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 30 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 32 là axit aspartic hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 38 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 45 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 53 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 55 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 60 là axit aspartic; gốc axit

amin ở vị trí 70 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 76 là asparagin; gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 80 là prolin hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 83 là methionin hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 85 là threonin; gốc axit amin ở vị trí 92 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 93 là serin hoặc axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 95 là prolin; hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là glyxin, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất;

gốc axit amin ở vị trí 28 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 31 là asparagin, glutamin, hoặc histidin; gốc axit amin ở vị trí 39 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 51 là serin; gốc axit amin ở vị trí 56 là threonin hoặc arginin; gốc axit amin ở vị trí 57 là valin; gốc axit amin ở vị trí 59 là serin; gốc axit amin ở vị trí 61 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 62 là lysin; gốc axit amin ở vị trí 65 là asparagin hoặc glutamin; gốc axit amin ở vị trí 67 là leuxin; gốc axit amin ở vị trí 73 là isoleuxin; gốc axit amin ở vị trí 82b là axit glutamic; hoặc gốc axit amin ở vị trí 102 là valin, trong miền biến đổi chuỗi nặng trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai;

gốc axit amin ở vị trí 3 (theo quy ước đánh số Kabat; cùng quy ước đánh số được áp dụng cho gốc axit amin dưới đây) là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 8 là prolin; gốc axit amin ở vị trí 15 là leuxin; gốc axit amin ở vị trí 24 là threonin; gốc axit amin ở vị trí 26 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 27 là glutamin; gốc axit amin ở vị trí 29 là serin; gốc axit amin ở vị trí 30 là glutamin, serin, hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 31 là arginin; gốc axit amin ở vị trí 32 là glutamin hoặc axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 38 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 48 là isoleuxin; gốc axit amin ở vị trí 49 là tyrosin; gốc axit amin ở vị trí 50 là glutamin; gốc axit amin ở vị trí 79 là axit glutamic; gốc axit amin ở vị trí 92 là alanin; gốc axit amin ở vị trí 94 là axit aspartic; gốc axit amin ở vị trí 95 là axit aspartic hoặc alanin; gốc axit amin ở vị trí 95a

là tyrosin hoặc được loại bỏ; hoặc gốc axit amin ở vị trí 96 là threonin, trong miền biến đổi chuỗi nhẹ trên đây của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, hoặc SEQ ID NO: 60.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, hoặc SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, hoặc SEQ ID NO: 72.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, hoặc SEQ ID NO: 83.

Theo một phương án, miền biến đổi chuỗi nhẹ của vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là miền biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, hoặc SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, hoặc SEQ ID NO: 94.

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu,

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm:

miền biến đổi chuỗi nặng (QH) nêu trong SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, hoặc SEQ ID NO: 60; và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (QL) nêu trong SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, hoặc SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, hoặc SEQ ID NO: 72, và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai bao gồm:

miền biến đổi chuỗi nặng (JH) nêu trong SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, hoặc SEQ ID NO: 83; và

miền biến đổi chuỗi nhẹ (JL) nêu trong SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, hoặc SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, hoặc SEQ ID NO: 94.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với FX, là là phân tử bất kỳ trong số các phân tử từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH01/QL21//JH01/JL01) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(b) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH02/QL22//JH01/JL01) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(c) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH03/QL23//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(d) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH03/QL24//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(e) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH02/QL22//JH03/JL03) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 75, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86;

(f) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH02/QL22//JH04/JL04) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 76, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 87;

(g) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH02/QL22//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(h) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL25//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 65, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(i) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL26//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(j) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL26//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(k) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL28//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(l) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL28//JH06/JL06) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(m) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL29//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(n) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL29//JH06/JL06) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(o) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH06/QL30//JH07/JL07) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(p) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH04/QL31//JH08/JL08) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 80, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91;

(q) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH06/QL32//JH07/JL07) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(r) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH06/QL32//JH09/JL09) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92;

(s) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH06/QL30//JH10/JL10) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93;

(t) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu (QH07/QL33//JH11/JL11) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 105, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 72, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94;

(u) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong FIX và/hoặc FIXa và epitop trong FX được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

(v) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu cạnh tranh liên kết với cả epitop trong FIX và/hoặc FIXa và epitop trong FX được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

Theo một phương án, vùng hằng định chuỗi nặng của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là vùng hằng định chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 118 hoặc SEQ ID NO: 119.

Theo một phương án, vùng hằng định chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 100 hoặc SEQ ID NO: 102.

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa vùng hằng định của (1) hoặc (2) dưới đây, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa vùng hằng định của (1) hoặc (2) dưới đây không phải là vùng hằng định được bao gồm trong vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất:

(1) SEQ ID NO: 119 cho vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 100 cho vùng hằng định chuỗi nhẹ;

(2) SEQ ID NO: 118 cho vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 102 cho vùng hằng định chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế là kháng thể đa đặc hiệu. Theo phương án khác, kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế là kháng thể đặc hiệu kép.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu kép chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với

FIX và/hoặc FIXa, và miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với FX, là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép (QH01/QL21//JH01/JL01) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(b) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH01/JL01) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(c) kháng thể đặc hiệu kép (QH03/QL23//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(d) kháng thể đặc hiệu kép (QH03/QL24//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

64, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(e) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH03/JL03) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86;

(f) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH04/JL04) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 76, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 87;

(g) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(h) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL25//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

65, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(i) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL26//JH02/JL02) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(j) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL26//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(k) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL28//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(l) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL28//JH06/JL06) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

67, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(m) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL29//JH05/JL05) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(n) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL29//JH06/JL06) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(o) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL30//JH07/JL07) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(p) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL31//JH08/JL08) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

70, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 80, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91;

(q) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL32//JH07/JL07) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(r) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL32//JH09/JL09) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92;

(s) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL30//JH10/JL10) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93;

(t) kháng thể đặc hiệu kép (QH07/QL33//JH11/JL11) chứa miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 105, miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID

NO: 72, miền biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, và miền biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94;

(u) kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

(v) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu cạnh tranh liên kết với cả epitop trong yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá và epitop trong yếu tố đông máu X được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và chuỗi nặng kháng thể thứ hai và chuỗi nhẹ kháng thể liên kết với FX, là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (v) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép (QH01/QL21//JH01/JL01) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 120, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149;

(b) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH01/JL01) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ

hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149;

(c) kháng thể đặc hiệu kép (QH03/QL23//JH02/JL02) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(d) kháng thể đặc hiệu kép (QH03/QL24//JH02/JL02) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(e) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH03/JL03) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 151;

(f) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH04/JL04) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 152;

(g) kháng thể đặc hiệu kép (QH02/QL22//JH02/JL02) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể

thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(h) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL25//JH02/JL02) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(i) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL26//JH02/JL02) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(j) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL26//JH05/JL05) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(k) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL28//JH05/JL05) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(l) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL28//JH06/JL06) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154;

(m) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL29//JH05/JL05) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(n) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL29//JH06/JL06) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154;

(o) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL30//JH07/JL07) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155;

(p) kháng thể đặc hiệu kép (QH04/QL31//JH08/JL08) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 135, chuỗi nặng kháng thể thứ

hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156;

(q) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL32//JH07/JL07) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155;

(r) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL32//JH09/JL09) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157;

(s) kháng thể đặc hiệu kép (QH06/QL30//JH10/JL10) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158;

(t) kháng thể đặc hiệu kép (QH07/QL33//JH11/JL11) chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(u) kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các epitop đồng nhất với cả epitop trong FIX và/hoặc FIXa và epitop trong FX được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

(v) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu cạnh tranh liên kết với cả epitop trong FIX và/hoặc FIXa và epitop trong FX được nhận biết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t).

Theo một phương án, sáng chế còn đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có chức năng thay thế chức năng của yếu tố đông máu VIII, có vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X,

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (Q499) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3,

trong đó miền biến đổi chuỗi nhẹ (QNK131) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 163, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 164, và

trong đó vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ,

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng (J327) bao gồm HVR-H1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4, HVR-H2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, và HVR-H3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6,

trong đó miền biến đổi chuỗi nhẹ (JNL095) bao gồm HVR-L1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165, HVR-L2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 166, và HVR-L3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167.

Theo các phương án nhất định, các kháng thể từ (a) đến (v) trên đây là các kháng thể có chức năng thay thế chức năng của FVIII.

Theo các phương án khác, các kháng thể từ (a) đến (v) trên đây là các kháng thể trong đó khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) giảm so với ACE910 (Emicizumab). Ở đây, thuật ngữ "khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) giảm so với ACE910 (Emicizumab)" có nghĩa là, khi độ mạnh liên kết (%) giữa kháng thể kháng idiotyp và ACE910 được đánh dấu được đo bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả ở đây, và nếu chất thử nghiệm được bổ sung ở nồng độ 100 μg/mL, thì tốt hơn là khả năng phản ứng giảm 10% hoặc hơn, tốt hơn nữa là giảm 20% hoặc hơn, còn tốt hơn nữa là giảm 30% hoặc hơn.

Kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) có thể được thu được bằng, ví dụ, phương pháp dưới đây. $F(ab')_2$ chứa Q499/L404 nhận biết FIX(a) và $F(ab')_2$ chứa J327/L404 nhận biết FX của ACE910 (Emicizumab) được dùng cho thỏ, và thu huyết thanh thỏ kháng Q499/L404 $F(ab')_2$ và huyết thanh thỏ kháng J327/L404 $F(ab')_2$. Các phân đoạn amoni sulfat trong các huyết thanh này được cho vào cột để loại bỏ các kháng thể phản ứng IgG người. Sau đó, việc tinh sạch ái lực được tiến hành bằng cách sử dụng cột liên kết Q499/L404 (J327/L404), và các kháng thể phản ứng J327/L404

(Q499/L404) được loại bỏ bằng cách sử dụng cột liên kết J327/L404 (Q499/L404), và do đó thu được các kháng thể kháng idiotyp đa dòng liên kết đặc hiệu với Q499/L404 (J327/L404).

Độ mạnh liên kết (%) của kháng thể kháng idiotyp đối với ACE910 được đánh dấu (Emicizumab) có thể đo được bằng, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch phát quang điện hóa, và điều này có thể đánh giá khả năng ức chế sự liên kết bằng chất thử nghiệm. Khi sử dụng các kháng thể kháng idiotyp thu được như đề cập trên đây, chất thử nghiệm (kháng thể đặc hiệu kép) được bổ sung ở nồng độ 0, 1, 3, 10, 30, hoặc 100 μg/mL vào hỗn hợp chứa kháng thể idiotyp kháng Q499/L404, kháng thể idiotyp kháng J327/L404, biotin-ACE910 được đánh dấu (Emicizumab), và SULFO-TAG-ACE910 được đánh dấu (Emicizumab), và dung dịch hỗn hợp tạo ra được ủ qua đêm trong điều kiện lạnh. Sau đó, dung dịch hỗn hợp này được bổ sung vào đĩa 96 giếng, và đĩa này được rửa, và sau đó độ mạnh liên kết được đo bằng phương pháp phát quang điện hóa.

Theo các phương án khác, các kháng thể từ (a) đến (v) trên đây có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được tăng cường và hoạt tính cao hơn ở nồng độ kháng thể thấp, so với ACE910 (Emicizumab).

Theo các phương án khác, các kháng thể từ (a) đến (v) trên đây gần như không có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX, và có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng so với ACE910 (Emicizumab). Ở đây, thuật ngữ "gần như không có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX" có nghĩa là, khi giá trị OD được đo bằng phương pháp được thể hiện trong bản mô tả này, độ giảm giá trị OD so với giá trị OD đối chứng là 0,025 hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 0,02 hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 0,01 hoặc nhỏ hơn.

Các axit amin được bao gồm trong các trình tự axit amin được mô tả ở đây có thể trải qua biến đổi sau dịch mã (ví dụ, biến đổi glutamin ở đầu cùng N thành axit pyroglutamic bằng quá trình pyroglutamic hóa là được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này). Trong tự nhiên, các trình tự có các axit amin được biến đổi sau dịch mã này cũng được bao gồm trong các trình tự axit amin được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu hoặc kháng thể đặc hiệu kép liên kết với cùng epitop như phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu hoặc kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây. Ví dụ, theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu hoặc kháng thể đặc hiệu kép liên kết với cùng epitop như phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu hoặc kháng thể đặc hiệu kép được mô tả từ (a) đến (t) trên đây.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể khảm, kháng thể được nhân hóa hoặc kháng thể người. Theo một phương án, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX là đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn $(scFv)_2$, đoạn thể kép, hoặc đoạn $F(ab')_2$. Theo một phương án khác, kháng thể này là kháng thể có độ dài đầy đủ, ví dụ, kháng thể IgG4 nguyên vẹn hoặc lớp kháng thể khác hoặc isotyp được xác định ở đây.

Theo khía cạnh khác, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể chứa đặc tính bất kỳ trong số các đặc tính, một cách đơn lẻ hoặc trong sự kết hợp, như được mô tả trong các phần từ 1 đến 7 dưới đây:

1. Ái lực kháng thể

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây có hằng số phân ly (Kd) bằng 100 micro M hoặc nhỏ hơn, 10 micro M hoặc nhỏ hơn, 1 micro M hoặc nhỏ hơn, 100 nM hoặc nhỏ hơn, 10 nM hoặc nhỏ hơn, 1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,1 nM hoặc nhỏ hơn, 0,01 nM hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,001 nM hoặc nhỏ hơn (ví dụ, $10^{-5}$ M hoặc nhỏ hơn, ví dụ, từ $10^{-5}$ M đến $10^{-10}$ M, ví dụ, từ $10^{-6}$ M đến $10^{-10}$ M).

Trong một phương án, Kd được đo bằng thử nghiệm liên kết kháng nguyên được đánh dấu phóng xạ (RIA: radiolabeled antigen binding assay). Trong một phương án, RIA được tiến hành với dạng Fab của kháng thể được quan tâm và kháng nguyên của nó. Ví dụ, ái lực liên kết dung dịch của các Fab với kháng nguyên được đo bằng cách cân bằng Fab với nồng độ tối thiểu của kháng nguyên được đánh dấu ($^{125}$I) khi có mặt chuỗi chuẩn độ của kháng nguyên không được đánh dấu, sau đó bắt giữ kháng nguyên đã liên kết với đĩa được phủ kháng thể kháng Fab (xem, ví dụ, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). Để thiết lập các điều kiện cho thử nghiệm này, các đĩa nhiều giếng MICROTITER (nhãn hiệu đã được đăng ký (Thermo Scientific) được phủ qua đêm bằng 5 micro g/ml kháng thể kháng Fab bắt giữ (Cappel Labs) trong 50 mM natri cacbonat (pH 9,6), và sau đó được phong bế bằng 2% (khối lượng/thể tích) albumin huyết thanh bò trong PBS trong từ hai đến năm giờ ở nhiệt độ trong phòng (xấp xỉ 23°C). Trong đĩa không hấp thụ (Nunc #269620), 100 pM hoặc 26 pM kháng nguyên [$^{125}$I] được trộn với các dung dịch pha loãng tuần tự của Fab được quan tâm (ví dụ, phù hợp với đánh giá về kháng thể kháng VEGF, Fab-12, trong Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)). Fab được quan tâm sau đó được ủ qua đêm; tuy nhiên, việc ủ có thể được tiếp tục trong một khoảng thời gian dài hơn (ví dụ, khoảng 65 giờ) để đảm bảo đạt được sự cân bằng. Sau đó, các hỗn hợp được chuyển sang đĩa bắt giữ để ủ ở nhiệt độ trong phòng (ví dụ, trong một giờ). Sau đó, dung dịch

được loại bỏ và đĩa được rửa tám lần bằng 0,1% polysorbat 20 (TWEEN-20 (nhãn hiệu đã được đăng ký)) trong PBS. Khi các đĩa đã khô, 150 µL/giếng chất nhấp nháy (MICROSCINT-20™; Packard) được bổ sung vào, và các đĩa được đếm trên máy đếm gama TOPCOUNT™ (Packard) trong mười phút. Nồng độ của mỗi Fab mà tạo ra nhỏ hơn hoặc bằng 20% độ liên kết tối đa được chọn để sử dụng trong các thử nghiệm liên kết cạnh tranh.

Theo một phương án khác, Kd được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt BIACORE (nhãn hiệu đã được đăng ký). Ví dụ, thử nghiệm sử dụng BIACORE (nhãn hiệu đã được đăng ký)-2000 hoặc BIACORE (nhãn hiệu đã được đăng ký)-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) được tiến hành ở 25°C với chip kháng nguyên CM5 được làm bất động ở ~10 đơn vị đáp ứng (RU: response unit). Theo một phương án, chip cảm biến sinh học dextran được carboxymetyl hóa (CM5, BIACORE, Inc.) được hoạt hóa bằng *N*-etyl-*N'*-(3-dimetylaminopropyl)-carbodiimit hydroclorua (EDC) và *N*-hydroxysuxinimit (NHS) theo các hướng dẫn của nhà cung cấp. Kháng nguyên được pha loãng bằng 10 mM natri axetat, pH 4,8, thành 5 µg/ml (~0,2 µM) trước khi tiêm ở tốc độ chảy 5 µL/phút để đạt được xấp xỉ 10 đơn vị đáp ứng (RU) của protein được liên hợp. Sau khi tiêm kháng nguyên, 1 M etanolamin được tiêm vào để phong bế các nhóm không phản ứng. Để đo động học, các dung dịch pha loãng tuần tự hai lần của Fab (từ 0,78 nM đến 500 nM) được tiêm trong PBS với chất hoạt động bề mặt 0,05% polysorbat 20 (TWEEN-20™) (PBST) ở 25°C ở tốc độ dòng xấp xỉ 25 µL/phút. Tốc độ kết hợp ($k_{on}$) và tốc độ phân ly ($k_{off}$) được tính toán bằng cách sử dụng mô hình liên kết Langmuir một đối một đơn giản (phần mềm đánh giá BIACORE (nhãn hiệu đã được đăng ký) phiên bản 3.2) bằng cách khớp đồng thời các đồ thị đáp ứng theo thời gian pha kết hợp và pha phân ly. Hằng số phân ly cân bằng (Kd) được tính bằng tỷ lệ $k_{off}/k_{on}$. Xem, ví dụ, Chen et al., *J. Mol. Biol.*

293:865-881 (1999). Nếu tốc độ liên hợp vượt quá $10^6 M^{-1}$ $s^{-1}$ theo thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt trên đây, thì tốc độ kết hợp này có thể được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật dập tắt huỳnh quang mà đo mức tăng hoặc giảm cường độ phát huỳnh quang (bước sóng kích thích= 295 nm; bước sóng phát = 340 nm, thông dải 16 nm) ở 25°C của 20 nM kháng thể kháng kháng nguyên (dạng Fab) trong PBS, pH 7,2, với sự có mặt của các nồng độ kháng nguyên tăng dần như đo được trong quang phổ kế, như quang phổ kế được trang bị bộ phận ngừng dòng chảy (Aviv Instruments) hoặc quang phổ kế 8000-series SLM-AMINCO™ (ThermoSpectronic) với cuvet có thiết bị khuấy.

2. Đoạn kháng thể

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây là đoạn kháng thể. Các đoạn kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $(scFv)_2$, thể kép, hoặc $F(ab')_2$, và các đoạn khác được mô tả dưới đây. Để xem lại các đoạn kháng thể nhất định, xem Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Để xem lại về các đoạn scFv, xem, ví dụ, Pluckthün, trong *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, quyển 113, Rosenburg và Moore eds., (Springer-Verlag, New York), trang 269-315 (1994); cũng xem WO 93/16185; và patent Mỹ số 5,571,894 và 5,587,458. Để thảo luận về các đoạn $F(ab')_2$ chứa các gốc epitop liên kết thụ thể cứu (salvage receptor) và có chu kỳ bán rã in vivo tăng, xem patent Mỹ số 5,869,046.

Thể kép là đoạn kháng thể có hai vị trí liên kết kháng nguyên mà có thể là hai giá hoặc đặc hiệu kép. Xem, ví dụ, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); và Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993).

Các đoạn kháng thể có thể được tạo ra bằng nhiều kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở kỹ thuật cắt phân giải protein kháng thể nguyên vẹn cũng như được sản sinh bởi tế bào chủ tái tổ hợp (ví dụ *E. coli* hoặc thể thực khuẩn), như được mô tả ở đây.

3. Kháng thể khảm và kháng thể được nhân hóa

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây là kháng thể khảm. Các kháng thể khảm nhất định được mô tả, ví dụ, trong patent Mỹ số 4,816,567; và Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Trong một ví dụ, kháng thể khảm chứa vùng biến đổi không phải của người (ví dụ, vùng biến đổi có nguồn gốc từ chuột nhắt, chuột cống, chuột hang, thỏ, hoặc động vật linh trưởng không phải người, chẳng hạn như khỉ) và vùng hằng định của người. Theo ví dụ khác, kháng thể thể khảm là kháng thể "được chuyển lớp" trong đó lớp hoặc phân lớp này đã được thay đổi so với lớp hoặc phân lớp của kháng thể mẹ. Các kháng thể khảm bao gồm các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng.

Theo một số phương án, kháng thể khảm là kháng thể được nhân hóa. Thông thường, kháng thể không phải của người được nhân hóa để làm giảm khả năng gây miễn dịch với người, trong khi vẫn giữ được tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể mẹ không phải của người này. Thông thường, kháng thể được nhân hóa chứa một hoặc nhiều vùng biến đổi trong đó các HVR, ví dụ, CDR, (hoặc một phần của chúng) có nguồn gốc từ kháng thể không phải của người, và các FR (hoặc một phần của chúng) có nguồn gốc từ các trình tự kháng thể người. Kháng thể được nhân hóa tùy ý sẽ bao gồm ít nhất là một phần của vùng hằng định người. Trong một số phương án, một số gốc FR trong kháng thể được nhân hóa được thay thế bằng các gốc tương ứng từ kháng thể không phải của người (ví dụ, kháng thể mà các gốc HVR có nguồn gốc từ đó), ví dụ, để phục hồi hoặc cải thiện tính đặc hiệu hoặc tính ái lực của kháng thể.

Các kháng thể được nhân hóa và các phương pháp tạo ra chúng được xem lại, ví dụ, trong Almagro và Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008), và cũng được mô tả, ví dụ, trong Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); các patent Mỹ số 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321, và 7,087,409; Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005) (mô tả sự ghép vùng quyết định tính đặc hiệu (SDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (mô tả "sự tái tạo bề mặt"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (mô tả "sự trộn rối FR"); và Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) và Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (mô tả phương pháp "chọn lọc được hướng dẫn" để trộn rối FR).

Vùng khung người mà có thể được sử dụng để làm nhân hoá bao gồm nhưng không giới hạn ở: vùng khung được lựa chọn bằng cách sử dụng phương pháp "phù hợp nhất" (xem, ví dụ, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); vùng khung thu được từ trình tự liên ứng của kháng thể người trong phân nhóm cụ thể của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng (xem, ví dụ, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); và Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); vùng khung hoàn thiện của người (được gây đột biến soma) hoặc vùng khung dòng tế bào sinh dục của người (xem, ví dụ, Almagro và Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); vùng khung có nguồn gốc từ việc sàng lọc các thư viện FR (xem, ví dụ, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) và Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

4. Kháng thể người

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây là kháng thể người. Kháng thể người có thể được sản sinh bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Kháng thể người đã được mô tả chung trong van Dijk và van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) và Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Kháng thể người có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kháng nguyên cho động vật chuyển gen đã được biến đổi để sản sinh kháng thể người nguyên vẹn hoặc kháng thể nguyên vẹn có vùng biến đổi của người đáp ứng với việc thử kháng nguyên. Động vật như trên thường chứa toàn bộ hoặc một phần của các locut globulin miễn dịch người, mà thay thế các locut globulin miễn dịch nội sinh, hoặc nằm ngoài nhiễm sắc thể hoặc được ngẫu nhiên kết hợp vào nhiễm sắc thể của động vật này. Ở chuột nhắt chuyển gen như vậy, locut globulin miễn dịch nội sinh thường bị bất hoạt. Để xem lại các phương pháp thu được kháng thể người từ động vật chuyển gen, xem Lonberg, *Nat. Biotech* 23:1117-1125 (2005). Cũng xem, ví dụ, các patent Mỹ số 6,075,181 và 6,150,584 mô tả công nghệ XENOMOUSE™; patent Mỹ số 5,770,429 mô tả công nghệ HUMAB (nhãn hiệu đã được đăng ký); patent Mỹ số 7,041,870 mô tả công nghệ K-M MOUSE (nhãn hiệu đã được đăng ký), và Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2007/0061900, mô tả công nghệ VELOCIMOUSE (nhãn hiệu đã được đăng ký)). Vùng biến đổi người từ kháng thể nguyên vẹn được sản sinh bởi động vật nêu trên có thể được biến đổi thêm, ví dụ, bằng cách kết hợp với vùng hằng định khác của người.

Kháng thể gười cũng có thể được tạo ra bằng các phương pháp dựa trên tế bào lai. Dòng tế bào u tủy người và dòng tế bào u tủy khác loài chuột-người sản sinh kháng thể đơn dòng người đã được mô tả. (xem, ví dụ, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques và Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); và Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).) Kháng thể người được tạo ra bằng công nghệ lai tế bào B người cũng được mô tả trong Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Các phương pháp khác bao gồm các phương pháp đã được mô tả, ví dụ, trong patent Mỹ số 7,189,826 (mô tả quy trình sản xuất kháng thể IgM đơn dòng của người từ dòng tế bào lai) và Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (mô tả các tế bào lai

người-người). Công nghệ tế bào lai người (Trioma technology) cũng được mô tả trong Vollmers và Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) và Vollmers và Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

Kháng thể người cũng có thể được tạo ra bằng cách phân lập các trình tự vùng biến đổi dòng vô tính Fv được chọn từ thư viện biểu hiện thể thực khuẩn có nguồn gốc từ người. Sau đó, các trình tự vùng biến đổi này có thể được kết hợp với vùng hằng định người mong muốn. Các kỹ thuật chọn lọc kháng thể người từ các thư viện kháng thể được mô tả dưới đây.

5. Kháng thể có nguồn gốc từ thư viện

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

Trong các phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn nhất định, các nguồn gen VH

và VL được tách dòng riêng bằng phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) và được tái tổ hợp ngẫu nhiên trong các thư viện thể thực khuẩn, mà sau đó có thể được sàng lọc để thu được các thể thực khuẩn liên kết kháng nguyên như được mô tả trong Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). Thể thực khuẩn thường biểu hiện các đoạn kháng thể, dưới dạng các đoạn Fv chuỗi đơn (scFv) hoặc các đoạn Fab. Các thư viện từ các nguồn được gây miễn dịch cung cấp kháng thể ái lực cao với kháng nguyên mà không đòi hỏi tạo ra các tế bào lai. Theo cách khác, nguồn tự nhiên có thể được tách dòng (ví dụ, từ người) để cung cấp nguồn kháng thể duy nhất cho nhiều kháng nguyên lạ cũng như kháng nguyên tự thân mà không cần gây miễn dịch như được mô tả bởi Griffiths et al., *EMBO J,* 12: 725-734 (1993). Cuối cùng, các thư viện tự nhiên cũng có thể được tạo ra theo phương pháp tổng hợp bằng cách tách dòng các đoạn gen V chưa được sắp xếp lại từ các tế bào gốc, và sử dụng các đoạn mồi PCR chứa trình tự ngẫu nhiên để mã hóa vùng CDR3 biến đổi cao và để hoàn thành việc sắp xếp lại *in vitro*, như được mô tả bởi Hoogenboom và Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). Các công bố patent mô tả các thư viện thể thực khuẩn kháng thể người bao gồm, ví dụ: Patent Mỹ số 5,750,373, và các Công bố patent Mỹ số 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, và 2009/0002360.

Kháng thể hoặc đoạn kháng thể được phân lập từ các thư viện kháng thể người được xem là kháng thể người hoặc đoạn kháng thể người ở đây.

6. Kháng thể đa đặc hiệu

Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "kháng thể đa đặc hiệu" đề cập đến kháng thể có thể liên kết đặc hiệu với các loại epitop khác nhau. Cụ thể hơn, kháng thể đa đặc hiệu là kháng thể có tính đặc hiệu với ít nhất hai loại epitop khác nhau, và, ngoài các kháng thể nhận biết các kháng nguyên khác nhau, kháng thể đa đặc hiệu còn

bao gồm các kháng thể nhận biết các epitop khác nhau trên cùng một kháng nguyên. (Ví dụ, khi kháng nguyên là thụ thể khác loại, kháng thể đa đặc hiệu liên kết với các miền khác nhau tạo nên thụ thể khác loại này; theo cách khác, khi kháng nguyên là monome, kháng thể đa đặc hiệu liên kết với nhiều vị trí trên kháng nguyên monome này) Thông thường, phân tử này liên kết với hai kháng nguyên (kháng thể đặc hiệu kép), nhưng nó có thể còn có tính đặc hiệu với nhiều kháng nguyên (ví dụ, ba loại). Theo các phương án cụ thể, một trong các kháng nguyên này là FIX và/hoặc FIXa, và kháng nguyên còn lại là FX. Kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra dưới dạng kháng thể hoàn chỉnh hoặc đoạn kháng thể.

Các kỹ thuật tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đồng biểu hiện tái tổ hợp hai cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ globulin miễn dịch có tính đặc hiệu khác nhau (xem Milstein và Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829, và Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)), và thao tác di truyền "núm-trong-lỗ" (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,731,168). Kháng thể đa đặc hiệu cũng có thể được tạo ra bằng cách thao tác di truyền các hiệu ứng lái tĩnh điện để tạo ra các phân tử heterodime kháng thể Fc (WO 2009/089004A1); tạo liên kết ngang hai hoặc nhiều kháng thể hoặc đoạn (ví dụ, xem patent Mỹ số 4,676,980, và Brennan et al. 81 (1985)); sử dụng khóa kéo leuxin để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)); sử dụng công nghệ "thể kép" để tạo các đoạn kháng thể đặc hiệu kép (xem, ví dụ, Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); và sử dụng dime chuỗi đơn Fv (scFv: single-chain Fv) (xem, ví dụ, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); và tạo ra kháng thể đặc hiệu ba như được mô tả, ví dụ, trong Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Kháng thể được thao tác di truyền với ba hoặc nhiều vị trí liên kết kháng nguyên chức năng, bao gồm "các kháng thể Bạch tuộc", cũng được bao gồm ở đây (xem, ví dụ US 2006/0025576A1).

7. Biến thể kháng thể

Theo một số phương án, các biến thể trình tự axit amin của các kháng thể đã đưa ra ở đây được đề xuất. Ví dụ, có thể mong muốn cải thiện ái lực liên kết và/hoặc các đặc tính sinh học khác của kháng thể. Các biến thể trình tự axit amin của kháng thể có thể được tạo ra bằng cách đưa các biến đổi thích hợp vào trình tự nucleotit mã hóa kháng thể này, hoặc bằng phương pháp tổng hợp peptit. Các biến đổi này bao gồm, ví dụ, các đột biến mất đoạn từ, và/hoặc các đột biến gắn xen vào và/hoặc các đột biến thế các gốc nằm trong trình tự axit amin của kháng thể. Tổ hợp bất kỳ của đột biến mất đoạn, đột biến gắn xen và đột biến thế có thể được tạo ra để đạt được cấu trúc cuối cùng, với điều kiện là cấu trúc cuối cùng này có các đặc điểm mong muốn, ví dụ, khả năng liên kết kháng nguyên.

a) Biến thể thay thế, gắn xen và mất đoạn

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các biến thể kháng thể có một hoặc nhiều đột biến thế axit amin. Các vị trí được quan tâm để gây đột biến thế bao gồm các HVR và các FR. Các đột biến thế bảo thủ được thể hiện trong Bảng 1 dưới tiêu đề "các đột biến thế được ưu tiên". Các thay đổi quan trọng hơn được đưa ra trong Bảng 1 dưới tiêu đề là "các đột biến thế điển hình", và như được mô tả thêm dưới đây về các lớp chuỗi bên axit amin. Các đột biến thế axit amin có thể được đưa vào kháng thể được quan tâm và các sản phẩm được sàng lọc về hoạt tính mong muốn, ví dụ, giữ được/được cải thiện về khả năng liên kết kháng nguyên, khả năng gây miễn dịch giảm, hoặc ADCC hoặc CDC được cải thiện.

Bảng 1

| Gốc ban đầu | Các gốc thế điển hình | Các gốc thế được ưu tiên |
|---|---|---|
| Ala (A) | Val; Leu; Ile | Val |
| Arg (R) | Lys; Gln; Asn | Lys |
| Asn (N) | Gln; His; Asp, Lys; Arg | Gln |
| Asp (D) | Glu; Asn | Glu |
| Cys (C) | Ser; Ala | Ser |
| Gln (Q) | Asn; Glu | Asn |
| Glu (E) | Asp; Gln | Asp |
| Gly (G) | Ala | Ala |
| His (H) | Asn; Gln; Lys; Arg | Arg |
| Ile (I) | Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleuxin | Leu |
| Leu (L) | Norleuxin; Ile; Val; Met; Ala; Phe | Ile |
| Lys (K) | Arg; Gln; Asn | Arg |
| Met (M) | Leu; Phe; Ile | Leu |
| Phe (F) | Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr | Tyr |
| Pro (P) | Ala | Ala |
| Ser (S) | Thr | Thr |
| Thr (T) | Val; Ser | Ser |
| Trp (W) | Tyr; Phe | Tyr |
| Tyr (Y) | Trp; Phe; Thr; Ser | Phe |
| Val (V) | Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleuxin | Leu |

Các axit amin có thể được chia nhóm theo các đặc điểm chuỗi bên chung:

(1) kỵ nước: Norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) ưa nước trung tính: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) có tính axit: Asp, Glu;

(4) có tính bazơ: His, Lys, Arg;

(5) các gốc ảnh hưởng đến hướng chuỗi: Gly, Pro;

(6) có tính thơm: Trp, Tyr, Phe.

Các đột biến thế không bảo toàn sẽ dẫn đến việc đổi thành viên của một trong số các nhóm này sang một nhóm khác.

Một loại biến thể thế bao gồm việc thay thế một hoặc nhiều gốc vùng siêu biến đổi của kháng thể mẹ (ví dụ, kháng thể được nhân hoá hoặc kháng thể người). Thông thường, (các) biến thể tạo ra được lựa chọn để nghiên cứu thêm sẽ có các biến đổi (ví dụ, cải thiện) về các đặc tính sinh học nhất định (ví dụ, ái lực tăng, khả năng gây miễn dịch giảm) so với kháng thể mẹ và/hoặc sẽ có các đặc tính sinh học nhất định của kháng thể mẹ gần như được giữ lại. Biến thể thay thế điển hình là kháng thể thành thục về ái lực, kháng thể này có thể được tạo ra một cách thuận tiện, ví dụ, bằng cách sử dụng các kỹ thuật thành thục ái lực dựa vào sự biểu hiện thể thực khuẩn chẳng hạn như các kỹ thuật được mô tả ở đây. Nói ngắn gọn, một hoặc nhiều gốc HVR được gây đột biến và các kháng thể biến thể được biểu hiện trên thể thực khuẩn và được sàng lọc để có hoạt tính sinh học cụ thể (ví dụ, ái lực liên kết).

Các thay đổi (ví dụ, các đột biến thế) có thể được tạo ra ở các HVR, ví dụ, để cải thiện ái lực kháng thể. Các thay đổi này có thể được tạo ra trong "các điểm nóng" HVR, nghĩa là, các gốc được mã hóa bởi các codon bị đột biến với tần xuất cao trong quá trình thành thục soma (xem, ví dụ, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), và/hoặc các gốc tiếp xúc với kháng nguyên, với VH hoặc VL biến đổi tạo ra được kiểm tra về ái lực liên kết. Sự thành thục ái lực bằng tạo cấu trúc và chọn lọc lại từ các thư viện thứ cấp đã được mô tả, ví dụ, trong Hoogenboom et al. trong *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).) Theo một số phương án về thành thục ái lực, tính đa dạng được đưa vào các gen biến đổi được chọn để làm thành thục bằng phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp khác nhau (ví dụ, PCR dễ bị lỗi, trộn rối chuỗi, hoặc quá trình gây đột biến định hướng oligonucleotit). Sau đó, thư viện thứ cấp được tạo ra. Tiếp theo, thư viện này

được sàng lọc để xác định các biến thể kháng thể bất kỳ có ái lực mong muốn. Một phương pháp khác để đưa tính đa dạng vào bao gồm các phương pháp định hướng HVR, trong đó một vài gốc HVR (ví dụ, 4-6 gốc một lần) được ngẫu nhiên hoá. Các gốc HVR liên quan đến khả năng liên kết kháng nguyên có thể được xác định cụ thể, ví dụ, bằng cách sử dụng kỹ thuật gây đột biến quét alanin hoặc tạo mô hình. Cụ thể là, CDR-H3 và CDR-L3 thường được hướng đích.

Theo một số phương án, đột biến thế, đột biến gắn xen, hoặc đột biến mất đoạn có thể xảy ra trong một hoặc nhiều HVR miễn là các thay đổi này gần như không làm giảm khả năng liên kết với kháng nguyên của kháng thể này. Ví dụ, các thay đổi bảo toàn (ví dụ, các đột biến thế bảo toàn như được đưa ra ở đây) mà gần như không làm giảm ái lực liên kết có thể được tạo ra trong các HVR. Ví dụ, các thay đổi này có thể nằm ngoài các gốc tiếp xúc kháng nguyên trong các HVR. Theo các phương án nhất định về các trình tự VH và VL biến đổi được đề xuất trên đây, mỗi HVR không bị thay đổi, hoặc chứa không nhiều hơn một, hai hoặc ba đột biến thế axit amin.

Phương pháp có lợi để xác định các gốc hoặc các vùng của kháng thể mà có thể được gắn đích để gây đột biến được gọi là "kỹ thuật gây đột biến quét alanin" như được mô tả bởi Cunningham và Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. Trong phương pháp này, gốc hoặc nhóm gồm các gốc đích (ví dụ, các gốc tích điện như arg, asp, his, lys, và glu) được xác định và được thay thế bằng một axit amin trung tính hoặc axit amin tích điện âm (ví dụ, alanin hoặc polyalanin) để xác định sự tương tác giữa kháng thể này với kháng nguyên có bị ảnh hưởng hay không. Các đột biến thế khác có thể được đưa vào các vị trí axit amin thể hiện tính nhạy cảm chức năng với các đột biến thế ban đầu. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, cấu trúc tinh thể của phức hợp kháng nguyên-kháng thể có thể được phân tích để xác định các điểm tiếp xúc giữa kháng thể và kháng nguyên. Các gốc tiếp xúc và các gốc lân cận này có thể được gắn đích hoặc

bị loại bỏ như các ứng viên cho đột biến thế. Các biến thể có thể được sàng lọc để xác định xem liệu chúng có chứa các đặc tính mong muốn hay không.

Các đột biến gắn xen trình tự axit amin bao gồm các dạng dung hợp đầu cùng amino và/hoặc đầu cùng carboxyl có độ dài nằm trong khoảng từ một gốc đến các polypeptit chứa một trăm gốc trở lên, cũng như các đột biến gắn xen nội trình tự của một gốc axit amin duy nhất hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về các đột biến gắn xen đầu cùng bao gồm kháng thể có gốc methionyl đầu cùng N. Các biến thể gắn xen của phân tử kháng thể bao gồm sự dung hợp của enzym (ví dụ, cho ADEPT) hoặc polypeptit làm tăng chu kỳ bán rã huyết tương của kháng thể vào đầu cùng N hoặc đầu cùng C của kháng thể này.

b) Các biến thể glycosyl hóa

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây được thay đổi để làm tăng hoặc làm giảm mức độ mà kháng thể này được glycosyl hóa. Việc bổ sung hoặc loại bỏ các vị trí glycosyl hóa cho kháng thể có thể được hoàn tất một cách thuận tiện bằng cách thay đổi trình tự axit amin sao cho một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa được tạo ra hoặc loại bỏ.

Khi kháng thể này chứa vùng Fc, thì carbohydrat gắn vào đó có thể được thay đổi. Các kháng thể tự nhiên được sản sinh bởi các tế bào động vật có vú thường bao gồm oligosacarit cấu trúc anten kép, có nhánh mà thường được liên kết bởi một cầu nối N vào Asn297 trong miền CH2 của vùng Fc. Xem, ví dụ, Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997). Oligosacarit có thể bao gồm nhiều loại carbohydrat khác nhau, ví dụ, manoza, N-axetyl glucosamin (GlcNAc), galactoza, và axit sialic, cũng như fucoza được gắn vào GlcNAc trong "thân" của cấu trúc oligosacarit anten kép. Theo các

phương án nhất định, có thể tạo ra các biến đổi của oligosacarit trong kháng thể theo sáng chế để tạo ra các biến thể kháng thể có các đặc tính nhất định được cải thiện.

c) Các biến thể vùng Fc

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều biến đổi axit amin có thể được đưa vào vùng Fc của kháng thể được đề xuất ở đây, nhờ đó tạo ra biến thể vùng Fc. Biến thể vùng Fc có thể bao gồm trình tự vùng Fc của người (ví dụ, vùng Fc của IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4 của người) có biến đổi axit amin (ví dụ, đột biến thay thế) ở một hoặc nhiều vị trí axit amin.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất biến thể kháng thể có một số nhưng không phải tất cả các chức năng tác động, làm cho biến thể đó trở thành ứng viên thích hợp cho các ứng dụng trong đó chu kỳ bán rã của kháng thể này trên *in vivo* là quan trọng, còn các chức năng tác động nhất định (như bổ thể và ADCC) là không cần thiết hoặc có hại. Các thử nghiệm về khả năng gây độc tế bào *in vitro* và/hoặc *in vivo* có thể được thực hiện để xác nhận mức giảm/mức suy yếu của hoạt tính CDC và/hoặc hoạt tính ADCC. Ví dụ, các thử nghiệm liên kết thụ thể Fc (FcR) có thể được thực hiện để đảm bảo rằng kháng thể này thiếu khả năng liên kết Fc gama R (do đó có khả năng thiếu hoạt tính ADCC), nhưng giữ được khả năng liên kết FcRn. Tế bào sơ cấp trung gian ADCC, tế bào giết tự nhiên (NK cell: natural killer cell), chỉ biểu hiện Fc gama RIII, trong khi đó tế bào bạch cầu đơn nhân biểu hiện Fc gama RI, Fc gama RII và Fc gama RIII. Sự biểu hiện FcR trên tế bào tạo máu được tóm tắt trong Bảng 3 trang 464 của Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991). Các ví dụ không giới hạn về thử nghiệm *in vitro* để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử được quan tâm được mô tả trong patent Mỹ số 5,500,362 (ví dụ, xem Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) và Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (xem Bruggemann, M. et al., *J. Exp.*

*Med.* 166:1351-1361 (1987)). Theo cách khác, các phương pháp thử nghiệm không có tính phóng xạ có thể được sử dụng (xem, ví dụ, thử nghiệm về khả năng gây độc tế bào không có tính phóng xạ-ACT1™ cho phương pháp đo tế bào dòng chảy (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; và thử nghiệm về khả năng gây độc tế bào không có hoạt tính phóng xạ CytoTox 96 (nhãn hiệu đã được đăng ký) (Promega, Madison, WI). Tế bào tác động hữu ích cho các thử nghiệm này bao gồm tế bào bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi (PBMC: peripheral blood mononuclear cell) và tế bào giết tự nhiên. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, hoạt tính ADCC của phân tử được quan tâm có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, trong mô hình động vật như mô hình được mô tả trong Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). Cũng có thể được tiến hành các thử nghiệm liên kết C1q để xác nhận rằng kháng thể không có khả năng liên kết với C1q và do đó thiếu hoạt tính CDC. Ví dụ, xem phương pháp ELISA liên kết C3c và C1q trong WO 2006/029879 và WO 2005/100402. Để đánh giá sự hoạt hóa bổ thể, thử nghiệm CDC có thể được tiến hành (xem, ví dụ, Gazzano-Santoro *et al., J. Immunol Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); và Cragg, M.S. và M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). Khả năng liên kết FcRn và các yếu tố quyết định độ thanh thải/chu kỳ bán rã *in vivo* cũng có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem, ví dụ, Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)).

Các biến thể nhất định của kháng thể có khả năng liên kết tăng hoặc giảm với các FcR được mô tả. (xem, ví dụ, patent Mỹ số 6,737,056; WO 2004/056312, và Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).)

Các kháng thể có các chu kỳ bán rã tăng và khả năng liên kết tăng với thụ thể Fc sơ sinh (FcRn) chịu trách nhiệm cho việc chuyển IgG của mẹ vào bào thai (Guyer et al. 117:587 (1976) và Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)), được mô tả trong

US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Các kháng thể này chứa vùng Fc có một hoặc nhiều đột biến thế làm cải thiện khả năng liên kết của vùng Fc vào FcRn. Các biến thể Fc này bao gồm các biến thể có các đột biến thế ở một hoặc nhiều gốc trong vùng Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 hoặc 434, ví dụ, đột biến thế của gốc 434 trong vùng Fc (patent Mỹ số 7,371,826).

Cũng xem Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); patent Mỹ số 5,648,260; Patent Mỹ số 5,624,821; và WO 94/29351 liên quan đến các ví dụ khác về các biến thể vùng Fc.

d) Các biến thể kháng thể được thao tác di truyền xystein

Theo các phương án nhất định, có thể mong muốn tạo ra các kháng thể được thao tác di truyền xystein, ví dụ, "thioMAb", mà trong đó một hoặc nhiều gốc của kháng thể được thế bằng các gốc xystein. Trong các phương án cụ thể, các gốc được thế xuất hiện ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể. Bằng cách thay thế các gốc này bằng xystein, các nhóm thiol phản ứng nhờ đó được nằm ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể và có thể được sử dụng để liên hợp kháng thể với các gốc khác, như các gốc dược chất hoặc các gốc cầu nối-dược chất, để tạo ra thể liên hợp miễn dịch, như được mô tả thêm ở đây. Theo các phương án nhất định, bất kỳ một hoặc nhiều gốc trong số các gốc dưới đây có thể được thay thế bằng xystein: V205 (quy ước đánh số Kabat) của chuỗi nhẹ; A118 (quy ước đánh số EU) của chuỗi nặng; và S400 (quy ước đánh số EU) của vùng Fc chuỗi nặng. Các kháng thể đã được thao tác di truyền xystein có thể được tạo ra như được mô tả, ví dụ, trong patent Mỹ số 7,521,541.

e) Dẫn xuất kháng thể

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất ở đây có thể được biến đổi thêm để chứa thêm các gốc không phải protein đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và dễ tìm. Các gốc thích hợp để tạo dẫn xuất kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các polyme tan được trong nước. Các ví dụ không giới hạn về polyme tan trong nước bao gồm, nhưng không giới hạn ở, polyetylen glycol (PEG), các copolyme của etylen glycol/propylen glycol, carboxymetylxenluloza, dextran, rượu polyvinylic, polyvinyl pyrolidon, poly-1,3-dioxolan, poly-1,3,6-trioxan, copolyme etylen/anhydrit maleic, các axit polyamin (hoặc các homopolyme hoặc các copolyme ngẫu nhiên), và dextran hoặc poly(n-vinyl pyrolidon)polyetylen glycol, các homopolyme popropylen glycol, các co-polyme polypropylen oxit/etylen oxit, các polyol được polyoxyetyl hóa (ví dụ, glyxerol), rượu polyvinylic, và các hỗn hợp của chúng. Polyetylen glycol propionaldehyt có thể có nhiều ưu điểm trong việc sản xuất do độ ổn định của nó trong nước. Polyme này có thể có khối lượng phân tử bất kỳ, và có thể có nhánh hoặc không phân nhánh. Số polyme được gắn vào kháng thể có thể thay đổi, và nếu nhiều hơn một polyme được gắn vào, thì chúng có thể là cùng một phân tử hoặc các phân tử khác nhau. Thông thường, 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 cần được cải thiện, liệu rằng dẫn xuất kháng thể có được sử dụng trong liệu pháp dưới các điều kiện xác định hay không, v.v.

Theo một phương án khác, các thể liên hợp của kháng thể và gốc không phải protein mà có thể được gia nhiệt chọn lọc bằng cách tiếp xúc với bức xạ được đề xuất. Theo một phương án, gốc không phải protein là ống nano cacbon (Kam et al., Proc. *Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). Bức xạ có thể có bước sóng bất kỳ, và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bước sóng không gây hại cho các tế bào thông

thường, nhưng gia nhiệt gốc không phải protein này đến một nhiệt độ mà tại đó các tế bào gần với kháng thể-gốc không phải protein bị tiêu diệt.

B. Chế phẩm và phương pháp tái tổ hợp:

Kháng thể có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các chế phẩm và các phương pháp tái tổ hợp, ví dụ, như được mô tả trong patent Mỹ số 4,816,567. Theo một phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hoá kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được mô tả ở đây. Axit nucleic này có thể mã hóa trình tự axit amin chứa VL và/hoặc trình tự axit amin chứa VH của kháng thể (ví dụ, chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể này). Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều vectơ (ví dụ, vectơ biểu hiện) chứa axit nucleic này được đề xuất. Theo một phương án khác nữa, tế bào chủ chứa axit nucleic này được đề xuất. Theo một phương án như vậy, tế bào chủ chứa (ví dụ, đã được biến nạp bằng): (1) vectơ chứa axit nucleic mã hóa trình tự axit amin chứa VL của kháng thể và trình tự axit amin chứa VH của kháng thể, hoặc (2) vectơ thứ nhất chứa axit nucleic mã hóa trình tự axit amin chứa VL của kháng thể và vectơ thứ hai chứa axit nucleic mã hóa trình tự axit amin chứa VH của kháng thể. Theo một phương án, tế bào chủ này là tế bào nhân chuẩn, ví dụ tế bào trứng chuột hang Trung Quốc (CHO) hoặc tế bào lympho (ví dụ, tế bào Y0, NS0, Sp2/0). Theo một phương án, phương pháp sản xuất kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hoá kháng thể này, như được đề xuất trên đây, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX, và tùy ý bước thu hồi kháng thể này từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi tế bào chủ).

Để sản xuất tái tổ hợp kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX, axit nucleic mã hoá kháng thể, ví dụ, như được mô tả trên đây, được phân lập và

được gắn xen vào một hoặc nhiều vectơ để tách dòng thêm và/hoặc biểu hiện trong tế bào chủ. Axit nucleic này có thể dễ dàng được phân lập và được giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các đoạn dò oligonucleotit mà có khả năng liên kết đặc hiệu với các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể).

Tế bào chủ thích hợp để tách dòng hoặc biểu hiện các vectơ mã hóa kháng thể bao gồm tế bào tiền nhân hoặc tế bào nhân chuẩn được mô tả ở đây. Ví dụ, kháng thể có thể được tạo ra trong vi khuẩn, cụ thể là khi sự glycosyl hóa và chức năng tác động Fc là không cần thiết. Để biểu hiện các đoạn kháng thể và các polypeptit trong vi khuẩn, xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,648,237, 5,789,199, và 5,840,523. (cũng xem Charlton, *Methods in Molecular Biology,* quyển 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), trang 245-254, mô tả sự biểu hiện của các đoạn kháng thể ở *E. coli*.) Sau khi biểu hiện, kháng thể này có thể được phân lập từ bột nhão tế bào vi khuẩn trong phân đoạn hòa tan và có thể được tinh chế thêm.

Ngoài ra vi sinh vật tiền nhân, vi sinh vật nhân chuẩn như nấm sợi hoặc nấm men là vật chủ tách dòng hoặc biểu hiện thích hợp cho vectơ mã hóa kháng thể, bao gồm cả các chủng nấm và nấm men có con đường glycosyl hóa đã được "nhân hoá", dẫn đến sự sản sinh kháng thể của người có kiểu glycosyl hóa một phần hoặc hoàn toàn. Xem Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), và Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

Các tế bào chủ thích hợp để biểu hiện kháng thể được glycosyl hóa cũng có nguồn gốc từ sinh vật đa bào (động vật không xương sống và động vật có xương sống). Các ví dụ về tế bào của động vật không xương sống bao gồm tế bào thực vật và tế bào côn trùng. Nhiều chủng baculovirut khác nhau đã được xác định mà có thể được

sử dụng kết hợp với tế bào côn trùng, cụ thể là để chuyển nhiễm tế bào *Spodoptera frugiperda*.

Mẫu nuôi tế bào thực vật cũng có thể được sử dụng làm vật chủ. Ví dụ, xem các patent Mỹ số 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, và 6,417,429 (mô tả công nghệ PLANTIBODIES™ để sản xuất kháng thể ở các loài thực vật chuyển gen).

Tế bào động vật có xương sống cũng có thể được sử dụng làm vật chủ. Ví dụ, dòng tế bào động vật có vú được thích nghi để sinh trưởng trong huyền phù có thể hữu ích. Các ví dụ khác về dòng tế bào chủ của động vật có vú hữu ích là dòng CV1 thận khỉ được biến nạp bằng SV40 (COS-7); dòng tế bào thận phôi người (293 hoặc tế bào 293 như được mô tả, ví dụ, trong Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59, (1977); tế bào thận chuột hang sơ sinh (BHK); tế bào Sertoli của chuột (tế bào TM4 như được mô tả, ví dụ, trong Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251, (1980)); tế bào thận của khỉ (CV1); tế bào thận của khỉ xanh ở Châu Phi (VERO-76); tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung của người (HELA); tế bào thận của chó (MDCK; tế bào gan của chuột cống buffalo (BRL 3A); tế bào phổi của người (W138); tế bào gan của người (Hep G2); khối u vú của chuột (MMT 060562); tế bào TRI, như được mô tả, ví dụ, trong Mather *et al., Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); tế bào MRC 5; và tế bào FS4. Dòng tế bào chủ động vật có vú hữu ích khác bao gồm tế bào trứng chuột hang Trung Quốc (CHO), bao gồm tế bào DHFR$^-$ CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 77:4216 (1980)); và dòng tế bào u tủy như Y0, NS0 và Sp2/0. Để xem lại một số dòng tế bào chủ của động vật có vú thích hợp để sản xuất kháng thể, ví dụ, xem Yazaki và Wu, *Methods in Molecular Biology,* quyển 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), trang 255-268 (2003).

C. Thử nghiệm

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây có thể được xác định, sàng lọc, hoặc xác định đặc điểm về các đặc tính sinh lý/hóa học và/hoặc các hoạt tính sinh học bằng các thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

1. Thử nghiệm liên kết và các thử nghiệm khác

Theo một khía cạnh, kháng thể theo sáng chế được kiểm tra hoạt tính liên kết kháng nguyên của nó, ví dụ, bằng các phương pháp đã biết như ELISA, thẩm tách Western, v.v...

Theo một khía cạnh khác, thử nghiệm cạnh tranh có thể được sử dụng để xác định kháng thể cạnh tranh với kháng thể đa đặc biệu bất kỳ trong số các kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được mô tả ở đây, về khả năng liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo các phương án nhất định, kháng thể cạnh tranh này liên kết với cùng epitop (ví dụ, epitop thẳng hoặc epitop cấu dạng) được liên kết bởi kháng thể đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được mô tả ở đây. Các phương pháp điển hình chi tiết để lập bản đồ cho epitop mà được liên kết bởi kháng thể được đưa ra trong Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," trong *Methods in Molecular Biology* quyển 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

Trong thử nghiệm cạnh tranh điển hình, FIX, FIXa, hoặc FX bất động được ủ trong dung dịch chứa kháng thể thứ nhất được đánh dấu liên kết với FIX, FIXa, hoặc FX (ví dụ, kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được mô tả ở đây) và kháng thể thứ hai không được đánh dấu được kiểm tra về tính cạnh tranh của nó với kháng thể thứ nhất về khả năng liên kết với FIX, FIXa, hoặc FX. Kháng thể thứ hai có thể có mặt trong dịch nổi tế bào lai. Trong mẫu đối chứng, FIX, FIXa, hoặc FX bất động được ủ

trong dung dịch chứa kháng thể thứ nhất được đánh dấu nhưng không chứa kháng thể thứ hai không được đánh dấu. Sau khi ủ trong các điều kiện cho phép kháng thể thứ nhất liên kết với FIX, FIXa, hoặc FX, loại bỏ kháng thể không liên kết thừa, và đo lượng chất đánh dấu kết hợp với FIX, FIXa, hoặc FX đã được làm bất động. Nếu lượng chất đánh dấu kết hợp với FIX, FIXa, hoặc FX bất động trong mẫu thử nghiệm là gần như giảm so với mẫu đối chứng, thì điều này thể hiện rằng kháng thể thứ hai đang cạnh tranh với kháng thể thứ nhất về khả năng liên kết với FIX, FIXa, hoặc FX. Xem Harlow và Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch,14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Thử nghiệm hoạt tính

Theo một khía cạnh, thử nghiệm được đề xuất để xác định hoạt tính sinh học của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX và có hoạt tính sinh học. Hoạt tính sinh học có thể bao gồm, ví dụ, hoạt tính thúc đẩy sự sản sinh FXa. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính sinh học *in vivo* và/hoặc *in vitro* cũng được đề xuất.

Theo các phương án nhất định, kháng thể theo sáng chế được kiểm tra về hoạt tính sinh học này. Thuật ngữ "hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII" có nghĩa là, ví dụ, hoạt tính làm tăng độ hấp thụ trong thử nghiệm phản ứng hoạt hóa FX bằng FIXa có sử dụng phương pháp định lượng đo màu, và hoạt tính làm tăng lượng sản sinh thrombin được tính trong thử nghiệm sản sinh thrombin có sử dụng huyết thanh rối loạn đông máu A.

Bằng cách sử dụng phương pháp định lượng đo màu, hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII có thể được đánh giá, một cách cụ thể, bằng cách đánh giá nó trong hệ thống đo chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế và, ví

dụ, FIXa, FX, cơ chất tổng hợp S-2222 (cơ chất tổng hợp của FXa), và phospholipit. Ví dụ, phéo đo có thể được tiến hành bằng phương pháp dưới đây. Tất cả các phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng. 5 µL dung dịch kháng thể đã được pha loãng bằng nước muối sinh lý đệm Tris chứa 0,1% albumin huyết thanh bò (sau đây, được đề cập như TBSB) được trộn với 5 µL 150 ng/mL yếu tố IXa beta người (Enzyme Research Laboratories), và nó được ủ trong đĩa 384 giếng trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng enzym trong hỗn hợp này được khơi mào bằng cách thêm 5 µL 24,7 µg/mL yếu tố X người (Enzyme Research Laboratories), và sau bốn phút, được dừng bằng cách thêm 5 µL 0,5 M EDTA. Phản ứng tạo màu được khơi mào bằng cách thêm 5 µL dung dịch cơ chất tạo màu. Sau 30 phút phản ứng tạo màu, sự thay đổi về độ hấp thụ ở 405 nm được đo bằng cách sử dụng SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Dung môi của yếu tố IXa beta người và yếu tố X người là TBSB chứa 4,0 µM dung dịch phospholipit (SYSMEX CO.) và 1,5 mM $CaCl_2$. S-2222 (SEKISUI MEDICAL) được hòa tan trong nước tinh khiết để tạo ra dung dịch cơ chất tạo màu ở 1,47 mg/mL, và dung dịch này được sử dụng trong thử nghiệm này. Hệ thống đo này thể hiện sự tương quan với mức độ nghiêm trọng của bệnh và triệu chứng lâm sàng trong các trường hợp bệnh rối loạn đông máu A (Rosen S, Andersson M, Blomback M et al. Các ứng dụng lâm sàng của phương pháp cơ chất tạo màu để xác định hoạt tính FVIII. Thromb Haemost 1985; 54: 811-23).

Bằng cách sử dụng thử nghiệm sản sinh thrombin, hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII có thể được đánh giá, một cách cụ thể, bằng cách sử dụng hệ thống đo chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế và, ví dụ, huyết tương thiếu FVIII, yếu tố đông máu XI đã được hoạt hóa, phospholipit, đệm Fluo, và cơ chất Fluo (FluCa-Kit; cơ chất tổng hợp của thrombin). Ví dụ, việc đo có thể được tiến hành bằng phương pháp dưới đây. 8 µL kháng thể đặc hiệu kép được pha loãng

bằng TBSB được thêm vào 72 µL huyết tương thiếu FVIII (George King), và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút hoặc hơn ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, thêm 20 µL dung dịch kích hoạt chứa 20 µM phospholipit và 5 ng/mL yếu tố XIa người (Enzyme Research Laboratories). Sau đó, phản ứng làm đông được khơi mào bằng cách thêm 20 µL dung dịch hỗn hợp chứa đệm Fluo và cơ chất Fluo của FluCa-Kit (Thrombinoscope). Lượng sản sinh thrombin có thể được đánh giá bằng cách sử dụng hệ thống phân tích và phép đo huỳnh quang sản sinh thrombin (Thrombinoscope). Thử nghiệm sản sinh thrombin sử dụng huyết tương rối loạn đông máu A thường thể hiện hoạt tính làm đông trong trường hợp bệnh rối loạn đông máu A, và sự tương quan với triệu chứng lâm sàng của bệnh này (Shima M, Matsumoto T & Ogiwara K. New assays for monitoring haemophilia treatment. Haemophilia 2008; 14: 83-92).

Thuật ngữ "hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX" đề cập đến sự giảm độ hấp thụ trong phản ứng hoạt hoá của FIX do FXIa sử dụng phương pháp định lượng đo màu. Cụ thể, phương pháp dưới đây được tiến hành. 5 µL dung dịch kháng thể đã được pha loãng bằng TBSB được trộn với 5 µL 3U/mL yếu tố IX người (Christmassin M, Tổ chức sản phẩm máu Nhật Bản), và hỗn hợp này được ủ trong đĩa 384 giếng trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng enzym trong hỗn hợp này được khơi mào bằng cách thêm 5 µL 90 ng/mL yếu tố XIa người (Enzyme Research Laboratories), và sau 60 phút, được dừng bằng cách thêm 5 µL 0,5 M EDTA. Phản ứng tạo màu được khơi mào bằng cách thêm 10 µL dung dịch cơ chất tạo màu. Sau 60 phút phản ứng tạo màu, sự thay đổi về độ hấp thụ ở 405 nm được đo bằng cách sử dụng SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Dung môi của yếu tố IX người và yếu tố XIa người là TBSB chứa 6,0 µM dung dịch phospholipit (SYSMEX CO.) và 1,5 mM $CaCl_2$. Spectrozyme FIXa (Sekisui Diagnostics) được hoà tan trong nước tinh khiết để tạo ra dung dịch cơ chất tạo màu ở 6,7 mM, và dung dịch này được trộn cùng etylen glycol

với tỷ lệ 5:8 và được sử dụng trong thử nghiệm này.

Tham khảo US 2014/0080153 (WO 2012/093704), khả năng liên kết của kháng thể với ECM (ma trận ngoại bào: extracellular matrix) có thể được đánh giá bằng quy trình dưới đây. ECM không có phenol đỏ (BD Matrigel #6137013) được pha loãng bằng TBS ở 2 mg/mL, và 5 µL dung dịch pha loãng này được nhỏ vào trung tâm của mỗi giếng trong đĩa để đo ECL (L15XB-6, MSD high bind) được làm lạnh trên đá. Sau đó, đĩa này được bịt kín bằng tấm bịt đĩa và được để yên qua đêm ở 4°C. Sau đó, mẫu kháng thể được pha loãng thành nồng độ 9 µg/mL bằng ACES-T (20 mM ACES, 150 mM NaCl, pH 7,4 hoặc pH 5,8 được bổ sung 0,01% Tween 20). Kháng thể thứ cấp được pha loãng thành nồng độ 2 µg/mL bằng ECLDB (ACES được bổ sung 0,1% BSA và 0,01% Tween 20). 25 µL dung dịch kháng thể được thêm vào đĩa đáy tròn trong đó 50 µL ECLDB được chia vào mỗi giếng. Đệm phong bế ECL được loại bỏ bằng dốc nghiêng từ đĩa ECM chứa đệm phong bế ECL, và 50 µL mỗi dung dịch kháng thể nêu trên được thêm vào đĩa này. Sau đó, hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi loại bỏ mẫu bằng cách dốc nghiêng, 50 µL 0,25% gluteraldehyt (được điều chế với ACES-T) được thêm vào mỗi giếng, và hỗn hợp này được để yên trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Mỗi giếng được rửa ba lần bằng PBS-T (PBS được bổ sung 0,05% Tween 20), và 50 µL kháng thể thứ cấp đã được pha loãng thành nồng độ 1 µg/mL bằng ECLDB được thêm vào mỗi giếng, và hỗn hợp này được khuấy trong 1 tiếng ở nhiệt độ trong phòng mà không có sự tiếp xúc với ánh sáng. Sau đó, 150 µL chất đệm READ (MSD) được thêm vào mỗi giếng, và tín hiệu phát sáng của đuôi sulfo (sulfo-tag) được phát hiện bằng cách sử dụng MESO SECTOR S600 (Meso Scale Discovery).

F. Dược phẩm

Dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX

và/hoặc FIXa, và FX như được mô tả ở đây được bào chế bằng cách trộn phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có độ tinh khiết mong muốn này với một hoặc nhiều chất mang dược dụng tuỳ ý (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, phiên bản thứ 16, Osol, A. Ed. (1980)), dưới dạng chế phẩm đông khô hoặc dung dịch nước. Các chất mang dược dụng thường là không độc với người nhận ởcác liều và nồng độ được sử dụng, và bao gồm, nhưng không giới hạn ở: các dung dịch đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; các chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và metionin; các chất bảo quản (như octadexyldimetylbenzyl amoni clorua; hexametoni clorua; benzalkoni clorua; benzethoni clorua; rượu phenolic, butylic hoặc rượu benzylic; các alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); các polypeptit có trọng lượng phân tử thấp (nhỏ hơn khoảng 10 gốc); các protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc các globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; các monosacarit, các disacarit, và các hyđrat cacbon khác bao gồm cả glucoza, manoza, hoặc các dextrin; các chất tạo chelat như EDTA; các loại đường như sucroza, manitol, trehaloza hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; các phức kim loại (ví dụ, các phức Zn-protein); và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion hóa như polyetylen glycol (PEG). Các chất mang dược dụng điển hình ở đây còn bao gồm các chất phân tán dược chất giữa các kẽ như các glycoprotein hyaluronidaza hoạt tính-trung tính hòa tan (sHASEGP), ví dụ, các glycoprotein hyaluronidaza PH-20 hòa tan của người, như rHuPH20 (HYLENEX® (nhãn hiệu đã được đăng ký), Baxter International, Inc.). Một số sHASEGP điển hình và các phương pháp sử dụng, bao gồm rHuPH20, được mô tả trong các Công bố patent Mỹ số 2005/0260186 và 2006/0104968. Theo một khía cạnh, sHASEGP được kết hợp với một hoặc nhiều glycosaminoglycanaza bổ sung như các chondroitinaza.

Các chế phẩm kháng thể đông khô điển hình được mô tả trong patent Mỹ số 6,267,958. Các chế phẩm kháng thể nước bao gồm các chế phẩm được mô tả trong patent Mỹ số 6,171,586 và WO2006/044908, các chế phẩm sau chứa chất đệm histidin-axetat.

Chế phẩm ở đây cũng có thể chứa nhiều thành phần hoạt tính khi cần thiết cho chỉ dẫn điều trị cụ thể, tốt hơn là các thành phần hoạt tính này có các hoạt tính bổ trợ không làm ảnh hưởng bất lợi cho nhau. Ví dụ, có thể được mong muốn để tạo ra thêm FVIII, FVII, FIX, chất ức chế TFPI, antithrombin gắn đích ARN can thiệp nhỏ (siRNA targeting antithrombin); cụ thể hơn là, Advate, Adynovate, Feiba, NovoSeven, NovoEight, N8-GP, N9-GP, Concizumab, Elocta, và Fitusiran. Các thành phần hoạt tính có mặt thích hợp trong hỗn hợp với các lượng có hiệu quả cho các mục đích dự kiến. FVIII, FVII, và FIX có thể bao gồm các thể dung hợp Fc và các thể dung hợp PEG của chúng.

Các thành phần hoạt chất có thể được giữ trong các vi nang được bào chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng phương pháp polyme hóa bề mặt phân cách, ví dụ, lần lượt đối với các vi nang hydroxymetylxenluloza hoặc gelatin và các vi nang poly-(metylmethacylat), trong các hệ phân phối dược chất dạng keo (ví dụ, các hạt liposom, các vi cầu albumin, vi nhũ tương, các hạt nano và các nang nano) hoặc trong nhũ tương thô. Các kỹ thuật này được mô tả trong *Remington's Pharmaceutical Sciences* phiên bản thứ 16, Osol, A. Ed. (1980).

Các chế phẩm giải phóng ổn định có thể được điều chế. Các ví dụ thích hợp về chế phẩm giải phóng ổn định bao gồm các ma trận bán thấm của các polyme kỵ nước dạng rắn chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, các ma trận này là trong dạng các sản phẩm được tạo hình, ví dụ, màng, hoặc vi nang.

Các chế phẩm sẽ được sử dụng để dùng *in vivo* thường là vô trùng. Sự vô trùng có thể đạt được một cách dễ dàng, ví dụ, bằng cách lọc qua màng lọc vô khuẩn.

G. Chế phẩm và phương pháp trị liệu

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bất kỳ liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây có thể được sử dụng trong các phương pháp trị liệu.

Theo một khía cạnh, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng làm thuốc được đề xuất. Theo các khía cạnh khác, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng trong điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu, được đề xuất. Theo các phương án nhất định, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng trong phương pháp điều trị được đề xuất. Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng trong phương pháp điều trị cá thể bị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu, bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo một phương án như vậy, phương pháp này còn bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng có hiệu quả của ít nhất một chất trị liệu bổ sung, ví dụ, như được mô tả dưới đây. Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng thay thế cho chức năng đồng yếu tố FVIII. Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sử dụng trong phương pháp thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong cá thể bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. "Cá thể" theo phương án bất kỳ trong

số các phương án trên đây tốt hơn là người. Theo sáng chế, "chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu" tốt hơn là bệnh phát triển và/hoặc tiến triển do sự suy giảm hoặc thiếu hụt hoạt động của FVIII và/hoặc yếu tố đông máu VIII đã được hoạt hoá (FVIIIa). Bệnh này bao gồm bệnh rối loạn đông máu A nêu trên, bệnh rối loạn đông máu B, bệnh rối loạn đông máu C, bệnh có sự xuất hiện của chất ức chế chống lại FVIII/FVIIIa, bệnh rối loạn đông máu mắc phải, và bệnh von Willebrand, nhưng không giới hạn cụ thể ở các bệnh này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để sản xuất hoặc bào chế thuốc. Theo một phương án, thuốc này là để điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu. Theo phương án khác, thuốc này được sử dụng trong phương pháp điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu, bao gồm bước cho cá thể bị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu dùng lượng có hiệu quả của thuốc này. Theo một phương án như vậy, phương pháp này còn bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng có hiệu quả của ít nhất một chất trị liệu bổ sung, ví dụ, như được mô tả dưới đây. Theo phương án khác, thuốc này là để thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. Theo phương án khác, thuốc này được sử dụng trong phương pháp thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong cá thể bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của thuốc này để thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. "Cá thể" theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể là con người. Theo sáng chế, "chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu" tốt hơn là bệnh phát triển và/hoặc tiến triển do sự suy giảm hoặc thiếu hụt hoạt động của FVIII và/hoặc FVIIIa. Bệnh này bao gồm bệnh rối loạn đông máu A nêu trên, bệnh rối loạn đông máu B, bệnh rối loạn đông máu C, bệnh có sự xuất hiện của chất ức chế

chống lại FVIII/FVIIIa, bệnh rối loạn đông máu mắc phải, và bệnh von Willebrand, nhưng không giới hạn cụ thể ở các bệnh này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm bước cho cá thể bị chảy máu, bệnh liên quan đến chảy máu, hoặc bệnh được gây ra do chảy máu dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX. Theo một phương án như vậy, phương pháp này còn bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng có hiệu quả của ít nhất một chất trị liệu bổ sung, như được mô tả dưới đây. "Cá thể" theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể là con người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong cá thể. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm bước cho cá thể dùng lượng có hiệu quả của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX để thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. Theo một phương án, "cá thể" là con người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bất kỳ liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây, ví dụ, để sử dụng trong các phương pháp trị liệu bất kỳ trên đây. Theo một phương án, dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bất kỳ liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây và chất mang dược dụng. Theo một phương án khác, dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu bất kỳ liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX được đề xuất ở đây và ít nhất một chất trị liệu bổ sung, ví dụ, như được mô tả dưới đây.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc trong sự kết hợp với các chất khác trong liệu pháp. Ví dụ, kháng thể theo sáng chế có thể được cho dùng đồng thời với ít nhất một chất trị liệu bổ sung. Theo các phương án nhất định, chất trị liệu bổ sung là, ví dụ, FVIII, FVII, FIX, chất ức chế TFPI, antithrombin gắn đích ARN can thiệp nhỏ; cụ thể hơn, Advate, Adynovate, Feiba, NovoSeven, NovoEight, N8-GP, N9-GP, Concizumab, Elocta, và Fitusiran. FVIII, FVII, và FIX có thể là các thể dung hợp Fc và các thể dung hợp PEG của chúng.

Các liệu pháp kết hợp như vậy được nêu trên đây bao gồm phương thức sử dụng kết hợp (trong đó hai chất trị liệu trở lên được bao gồm trong cùng chế phẩm hoặc trong các chế phẩm tách biệt), và phương thức sử dụng tách biệt, trong trường hợp này, việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể diễn ra trước, đồng thời, và/hoặc sau khi sử dụng chất hoặc các chất trị liệu bổ sung. Theo một phương án, việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX và việc sử dụng chất trị liệu bổ sung được diễn ra cách nhau trong vòng khoảng một tháng, hai tháng, ba tháng, bốn tháng, năm tháng, hoặc sáu tháng, hoặc trong vòng khoảng một, hai hoặc ba tuần, hoặc trong vòng khoảng một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu ngày.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế (và chất trị liệu bổ sung bất kỳ) có thể được sử dụng qua các con đường thích hợp bất kỳ, bao gồm ngoài đường tiêu hóa, trong phổi, và trong mũi, và, nếu muốn để điều trị khu trú, sử dụng trong thương tổn. Truyền ngoài đường tiêu hóa bao gồm sử dụng trong cơ, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong màng bụng hoặc dưới da. Việc sử dụng liều có thể bằng đường thích hợp bất kỳ, ví dụ, bằng cách tiêm, như trong tiêm tĩnh mạch hoặc dưới da, tùy thuộc một phần vào việc sử dụng này là trong thời gian ngắn hay lâu dài. Các lịch

sử dụng liều khác nhau bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một hoặc nhiều lần sử dụng ở nhiều thời điểm khác nhau, sử dụng liều lớn, và truyền theo xung được đề xuất ở đây.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể được bào chế, định liều, và sử dụng theo cách phù hợp với thực hành y tế tốt. Các yếu tố để cân nhắc trong ngữ cảnh này bao gồm rối loạn cụ thể đang được điều trị, động vật có vú cụ thể đang được điều trị, tình trạng lâm sàng của từng bệnh nhân, nguyên nhân của rối loạn, vị trí phân phối của hoạt chất, phương pháp sử dụng, lịch sử dụng thuốc, và các yếu tố khác mà những người thực hành y khoa đã biết. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu không cần, nhưng tùy ý được điều chế với một hoặc nhiều chất hiện nay đang được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị rối loạn này. Lượng có hiệu quả của các chất khác này phụ thuộc vào lượng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có mặt trong chế phẩm, loại rối loạn hoặc phương pháp điều trị, và các yếu tố khác được bàn luận trên đây. Các dược phẩm này thường được sử dụng ở các liều giống nhau và bằng các đường sử dụng như được mô tả ở đây, hoặc từ khoảng 1 đến 99% các liều được mô tả ở đây, hoặc ở liều bất kỳ và bằng đường bất kỳ đã được xác định theo kinh nghiệm/lâm sàng là thích hợp.

Để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh, liều thích hợp của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế (khi được sử dụng một mình hoặc trong sự kết hợp với một hoặc nhiều chất trị liệu bổ sung khác) sẽ phụ thuộc vào loại bệnh cần được điều trị, loại phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, mức độ nghiêm trọng và tiến trình của bệnh, cho dù là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được dùng với mục đích phòng ngừa hoặc mục đích điều trị, liệu pháp trước đó, tiền sử lâm sàng của bệnh nhân và sự đáp ứng với kháng thể này, và sự thận trọng của bác sĩ tham gia. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được sử dụng thích hợp cho bệnh nhân trong một

lần hoặc qua một loạt các điều trị. Tùy theo loại và mức độ nghiêm trọng của bệnh, khoảng 1 μg/kg đến 15 mg/kg (ví dụ, 0,1mg/kg - 10 mg/kg) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có thể là liều thử ban đầu để cho bệnh nhân dùng, dù, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần sử dụng riêng biệt, hoặc bằng cách truyền liên tục. Một liều hàng ngày điển hình có thể nằm trong khoảng từ 1 μg/kg đến 100 mg/kg hoặc cao hơn, tuỳ vào các yếu tố nêu trên. Để sử dụng lặp lại trong nhiều ngày hoặc dài hơn, tùy thuộc vào tình trạng này, việc điều trị thường được duy trì đến khi tác dụng ngăn chặn các triệu chứng bệnh mong muốn xảy ra. Một liều điển hình của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu sẽ nằm trong khoảng từ 0,05mg/kg đến 10mg/kg. Do đó, một hoặc nhiều liều xấp xỉ 0,5mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg, hoặc 10mg/kg (hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng) có thể được sử dụng cho bệnh nhân. Có thể sử dụng các liều này một cách ngắt quãng, ví dụ, hằng tuần hoặc ba tuần một lần, (ví dụ, sao cho bệnh nhân nhận từ hai đến hai mươi, hoặc, ví dụ, sáu liều phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu). Liều tải ban đầu cao hơn, sau đó là một hoặc nhiều liều thấp hơn có thể được sử dụng. Tuy nhiên, các phác đồ liều khác có thể hữu ích. Tiến trình của liệu pháp này được theo dõi một cách dễ dàng bằng các kỹ thuật và thử nghiệm thông thường.

Được hiểu là bất kỳ trong số các chế phẩm hoặc phương pháp điều trị trên đây có thể được tiến hành bằng cách sử dụng thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế thay cho phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với FIX và/hoặc FIXa, và FX.

H. Sản phẩm của quá trình sản xuất

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, sản phẩm của quá trình sản xuất chứa các vật liệu hữu ích cho việc điều trị, phòng ngừa và/hoặc chẩn đoán các rối loạn được mô tả trên đây được đề xuất. Sản phẩm của quá trình sản xuất bao gồm đồ bao gói và nhãn nằm trên đồ bao gói hoặc tờ hướng dẫn sử dụng kèm theo đồ bao gói. Các đồ bao gói thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ, xylanh, túi dung dịch IV v.v...Các đồ bao gói

này có thể được tạo ra từ nhiều loại vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc nhựa. Đồ bao gói chứa chế phẩm mà tự nó hoặc được kết hợp với một chế phẩm khác là hữu hiệu cho việc điều trị, phòng ngừa và/hoặc chẩn đoán tình trạng bệnh và có thể có cổng tiếp cận vô trùng (ví dụ, đồ bao gói có thể là túi dung dịch trong tĩnh mạch hoặc lọ có nút chặn có thể đâm xuyên được bằng kim tiêm dưới da). Ít nhất một thành phần hoạt tính trong chế phẩm là phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng thể hiện rằng chế phẩm được sử dụng để điều trị tình trạng được chọn. Ngoài ra, sản phẩm của quá trình sản xuất có thể bao gồm (a) đồ bao gói thứ nhất chứa một chế phẩm, trong đó chế phẩm này chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế; và (b) đồ bao gói thứ hai chứa một chế phẩm, trong đó chế phẩm này chứa chất gây độc tế bào khác hoặc chất trị liệu khác. Sản phẩm của quá trình sản xuất theo phương án này của sáng chế có thể còn bao gồm tờ hướng dẫn sử dụng thể hiện rằng các chế phẩm này có thể được sử dụng để điều trị một tình trạng bệnh cụ thể. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, sản phẩm của quá trình sản xuất có thể còn bao gồm đồ bao gói thứ hai (hoặc thứ ba) chứa dung dịch đệm dược dụng, như nước kìm hãm vi khuẩn dùng để tiêm (bacteriostatic water for injection-BWFI), nước muối được đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó có thể còn bao gồm các nguyên liệu khác thích hợp theo quan điểm thương mại và người sử dụng, bao gồm các dung dịch đệm khác, chất pha loãng, bộ lọc, kim, và bơm tiêm.

Một phương án khác theo sáng chế đề cập đến phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, và phương pháp kiểm soát sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong phân tử liên kết kháng nguyên.

Phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế đề cập đến phân tử liên kết kháng

nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, trong đó chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên là tổ hợp của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được quan tâm, và trong đó các gốc axit amin ở các vị trí đã cho trong vùng hằng định của chuỗi nặng (CH1) và vùng hằng định của chuỗi nhẹ (CL) là các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau (có cùng điện tích).

Theo sáng chế, bằng cách khiến các gốc axit amin ở các vị trí đã cho trong CH1 và CL của tổ hợp không mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ thành các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau (nghĩa là, có cùng điện tích), sự hình thành của các tổ hợp không mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được ngăn chặn bằng cách sử dụng sự đẩy điện tích này, và kết quả là, có thể hình thành tổ hợp mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Theo sáng chế, các thuật ngữ "để kiểm soát sự kết hợp" và "sự kết hợp được kiểm soát " đề cập đến việc kiểm soát để đạt được điều kiện kết hợp mong muốn, và cụ thể hơn đề cập đến sự kiểm soát sao cho không tạo ra các kết hợp không mong muốn giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Theo sáng chế, thuật ngữ "mặt phân cách" thường đề cập đến bề mặt kết hợp được hình thành do sự kết hợp (sự tương tác), và các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách thường là một hoặc nhiều gốc axit amin trong các vùng polypeptit tham gia vào sự kết hợp này, và tốt hơn nữa là các gốc axit amin tiến lại gần nhau trong quá trình kết hợp và có liên quan đến sự tương tác. Cụ thể hơn, sự tương tác này bao gồm, ví dụ, các trường hợp mà các gốc axit amin tiến lại gần nhau trong quá trình kết hợp để tạo thành các liên kết hydro, các tương tác điện tĩnh, hoặc các cầu muối với nhau.

Theo sáng chế, thuật ngữ "các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách" cụ thể hơn đề cập đến các gốc axit amin có trong vùng polypeptit tạo thành mặt phân cách.

Ví dụ, vùng polypeptit tạo thành mặt phân cách đề cập đến vùng polypeptit chịu trách nhiệm cho sự liên kết chọn lọc giữa các phân tử như trong các phân tử liên kết kháng nguyên (ví dụ, các kháng thể), các phối tử, các thụ thể, hoặc các cơ chất. Cụ thể hơn, trong phân tử liên kết kháng nguyên, các ví dụ về vùng polypeptit tạo thành mặt phân cách bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng hằng định chuỗi nhẹ, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

"Sự biến đổi" của các gốc axit amin theo sáng chế đề cập một cách cụ thể đến sự thay thế (các) gốc axit amin ban đầu bởi (các) gốc axit amin khác, sự mất đi (các) gốc axit amin ban đầu, sự thêm (các) gốc axit amin mới, và tương tự, nhưng thuật ngữ này tốt hơn là đề cập đến sự thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin ban đầu bởi các gốc axit amin khác.

Theo phương án được ưu tiên về phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế, phân tử liên kết kháng nguyên có các gốc axit amin ở các vị trí đã cho trong CH1 và CL của tổ hợp không mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đẩy điện tích với nhau (có cùng điện tích) trước khi kiểm soát sự kết hợp.

Bằng cách làm biến đổi các gốc axit amin trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên thành các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau (có cùng điện tích), sự kết hợp của các gốc axit amin này được cho là bị ức chế bởi lực đẩy của các điện tích.

Do đó, trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, các gốc axit amin được biến đổi tốt hơn là các gốc axit amin tiến gần nhau trong quá trình kết hợp, trong các vùng polypeptit tạo thành mặt phân cách.

Các gốc axit amin tiến gần nhau trong quá trình kết hợp có thể được xác định bằng, ví dụ, phân tích cấu trúc ba chiều của polypeptit, và kiểm tra các trình tự axit amin trong các vùng polypeptit tạo thành mặt phân cách trong quá trình kết hợp

polypeptit. Trong phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế, các gốc axit amin trong mặt phân cách tiến gần nhau là các mục tiêu được ưu tiên cho "sự biến đổi".

Một số axit amin được biết là có điện tích. Thông thường, lysin (K), arginin (R) và histidin (H) được biết là các axit amin có điện tích dương (các axit amin điện tích dương). Axit aspartic (D), axit glutamic (E), và axit amin tương tự được biết là các axit amin có điện tích âm (các axit amin điện tích âm). Ngoài ra, alanin (A), asparagin (N), xystein (C), glutamin (Q), glyxin (G), isoleuxin (I), leuxin (L), methionin (M), phenylalanin (F), prolin (P), serin (S), threonin (T), tryptophan (W), tyrosin (Y), valin (V), và các axit amin tương tự được biết là các axit amin không có điện tích, hoặc các axit amin không có cực.

Do đó, các axit amin đẩy điện tích với nhau (có cùng điện tích) theo sáng chế là:

(1) các axit amin trong đó một axit amin là axit amin điện tích dương và axit amin còn lại cũng là axit amin điện tích dương, và

(2) các axit amin trong đó một axit amin là axit amin điện tích âm và axit amin còn lại cũng là axit amin điện tích âm.

Các axit amin có thể được biến đổi theo các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ về các phương pháp này bao gồm, nhưng không giới hạn ở gây đột biến định hướng điểm (Hashimoto-Gotoh, T., Mizuno, T., Ogasahara, Y. và Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis, Gene 152, 271-275; Zoller, M.J. và Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors, Methods Enzymol. 100, 468-500; Kramer, W., Drutsa, V., Jansen, H.W., Kramer, B., Pflugfelder, M. và Fritz, H.J. (1984) The gapped duplex DNA approach to

oligonucleotide-directed mutation construction, Nucleic Acids Res. 12, 9441-9456; Kramer, W. và Fritz, H.J. (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA, Methods Enzymol. 154, 350-367; Kunkel, T.A. (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 488-492), gây đột biến PCR, gây đột biến caxet, v.v...

Ví dụ về các biến đổi axit amin bao gồm biến đổi của axit amin không có điện tích hoặc axit amin không có cực thành axit amin điện tích dương, biến đổi của axit amin không có điện tích hoặc axit amin không có cực thành axit amin điện tích âm, biến đổi của axit amin điện tích dương thành axit amin điện tích âm, và biến đổi của axit amin điện tích âm thành axit amin điện tích dương. Ngoài ra, biến đổi của axit amin không có điện tích hoặc axit amin không có cực thành axit amin không có điện tích hoặc không có cực khác, biến đổi của axit amin điện tích dương thành axit amin điện tích dương khác, và biến đổi của axit amin điện tích âm thành axit amin điện tích âm khác cũng được bao gồm trong các biến đổi axit amin theo sáng chế.

Việc làm biến đổi các axit amin theo sáng chế bao gồm việc tạo ra một biến đổi trong từng chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, hoặc tạo ra nhiều biến đổi trong từng chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Ngoài ra, số lượng các biến đổi ở chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể là giống hoặc khác nhau.

Việc làm biến đổi các axit amin theo sáng chế bao gồm việc tạo ra nhiều biến đổi cho các axit amin điện tích dương trên chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, và việc tạo ra nhiều biến đổi cho các axit amin điện tích âm trên chuỗi còn lại. Ngoài ra, có thể tạo ra nhiều biến đổi cho các axit amin điện tích dương cũng như là nhiều biến đổi cho các axit amin điện tích âm trên cùng chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ. Trong các biến đổi này, cũng có thể kết hợp một các phù hợp các biến đổi thành các axit amin không có điện tích hoặc các axit amin không có cực cũng như là các biến đổi của các axit amin không

có điện tích hoặc các axit amin không có cực.

Trong các biến đổi theo sáng chế, ví dụ, các axit amin trên một chuỗi có thể được sử dụng như bản chất của chúng mà không có sự biến đổi, và trong các trường hợp như vậy, chuỗi nặng và chuỗi nhẹ không cần phải cùng được biến đổi, và chỉ một chuỗi có thể được biến đổi.

Dù không có giới hạn cụ thể về số lượng các gốc axit amin bị biến đổi trong phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế, ví dụ, khi làm biến đổi vùng hằng định của kháng thể, để không làm giảm hoạt tính liên kết với kháng nguyên và không làm tăng tính gây miễn dịch, tốt hơn là làm biến đổi càng ít gốc axit amin càng tốt. "Ít" nêu trên là, ví dụ, một số từ 1 đến 30, tốt hơn là một số từ 1 đến 20, thậm chí tốt hơn nữa là một số từ 1 đến 15, và tốt nhất là một số từ 1 đến 5.

Vùng hằng định chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế là tốt hơn là vùng hằng định chuỗi nhẹ người. Các ví dụ về kháng thể vùng hằng định chuỗi nhẹ bao gồm các vùng hằng định loại IgK (Kapa), IgL1, IgL2, IgL3, IgL6 và IgL7 (Lambda). Vùng hằng định chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể; khi sử dụng nhiều loại chuỗi nhẹ, các chuỗi nhẹ có thể là các loại chuỗi nhẹ kháng nhau, ví dụ, Kapa và Lambda. Một số trình tự alotyp thu được bằng cách tạo đa hình di truyền được mô tả trong Sequences of Proteins of Immunological Interest, số công bố NIH 91-3242 dưới dạng vùng hằng định IgK (Kapa) người và vùng hằng định IgL7 (Lambda) người, và vùng bất kỳ trong số này có thể được sử dụng theo sáng chế.

Các vùng hằng định kháng thể, cụ thể là, các vùng hằng định chuỗi nặng, có thể được biến đổi khi cần thiết để cải thiện chức năng hoặc sự ổn định của phân tử liên kết kháng nguyên. Ví dụ về các biến đổi cải thiện chức năng của phân tử liên kết kháng

nguyên bao gồm các biến đổi làm tăng cường hoặc làm yếu đi liên kết giữa phân tử liên kết kháng nguyên và thụ thể Fcγ (FcγR), các biến đổi làm tăng cường hoặc làm yếu đi liên kết giữa phân tử liên kết kháng nguyên và FcRn, các biến đổi làm tăng cường hoặc làm yếu đi hoạt tính gây độc tế bào (như hoạt tính ADCC và hoạt tính CDC) của phân tử liên kết kháng nguyên, và các phân tử tương tự. Ngoài ra, các biến đổi làm cải thiện sự không đồng nhất của phân tử liên kết kháng nguyên và các biến đổi làm cải thiện tính gây miễn dịch và/hoặc dược động học cũng có thể được bao gồm.

Ngoài ra, như là sự không đồng nhất của trình tự đầu cùng C trong chuỗi nặng của kháng thể IgG, sự amin hoá của nhóm carboxyl đầu cùng C bằng cách loại bỏ axit amin đầu cùng C, gốc lysin, hoặc bằng cách loại bỏ hai axit amin đầu cùng C, glyxin và lysin, đã được báo cáo (Anal. Biochem. Ngày 1 tháng 1 năm 2007:360(1):75-83).

Do đó, theo sáng chế, để làm giảm sự không đồng nhất của đầu cùng C trong chuỗi nặng, tốt hơn là sử dụng IgG trong đó lysin ở đầu cùng C hoặc lysin ở đầu cùng C và glyxin đã được loại bỏ.

Các kháng thể được nhân hoá và khảm sử dụng các trình tự có nguồn gốc từ người được kỳ vọng là có lợi khi được sử dụng cho con người vì mục đích trị liệu hoặc tương tự, vì tính kháng nguyên của chúng trong cơ thể người đã bị làm suy yếu.

Ví dụ được ưu tiên về phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế là multime khác loại có hai hoặc hơn hai loại CH1 và hai hoặc hơn hai loại CL. Multime khác loại này tốt hơn là liên kết với hai hoặc hơn hai loại epitop, và ví dụ về multime khác loại này là kháng thể đa đặc hiệu.

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế là kháng thể đặc hiệu kép. Do đó, ví dụ về phương án được ưu tiên của phân tử liên kết kháng nguyên theo

sáng chế là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm hai loại chuỗi nặng (chuỗi nặng thứ nhất và chuỗi nặng thứ hai) và hai loại chuỗi nhẹ (chuỗi nhẹ thứ nhất và chuỗi nhẹ thứ hai).

Sự mô tả chính xác hơn về "kháng thể đặc hiệu kép" theo phương án được ưu tiên của phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế là "chuỗi nặng thứ nhất" trên đây đề cập đến một trong hai chuỗi nặng (các chuỗi H) tạo thành kháng thể, và "chuỗi H thứ hai" đề cập đến chuỗi H còn lại khác với chuỗi H thứ nhất. Nghĩa là, trong hai chuỗi H, một trong chúng có thể được tuỳ ý xác định như chuỗi H thứ nhất và chuỗi còn lại có thể được xác định như chuỗi H thứ hai. Tương tự, "chuỗi nhẹ thứ nhất" đề cập đến một trong hai chuỗi nhẹ (các chuỗi L) tạo thành kháng thể đặc hiệu kép, và "chuỗi L thứ hai" đề cập đến chuỗi L còn lại khác với chuỗi L thứ nhất. Trong hai chuỗi L, một trong chúng có thể được tuỳ ý xác định như chuỗi L thứ nhất và chuỗi còn lại có thể được xác định như chuỗi L thứ hai. Thông thường, chuỗi L thứ nhất và chuỗi H thứ nhất có nguồn gốc từ cùng kháng thể liên kết với kháng nguyên nhất định (hoặc epitop), và chuỗi L thứ hai và chuỗi H thứ hai cũng có nguồn gốc từ cùng kháng thể liên kết với kháng nguyên nhất định (hoặc epitop). Ở đây, cặp chuỗi L-chuỗi H được tạo thành bởi chuỗi L và chuỗi H thứ nhất được gọi là cặp thứ nhất, và cặp chuỗi L-chuỗi H được tạo thành bởi chuỗi L và chuỗi H thứ hai được gọi là cặp thứ hai. Kháng nguyên (hoặc epitop) được sử dụng để tạo ra kháng thể mà cặp thứ hai có nguồn gốc từ đó là tốt hơn là khác với kháng nguyên được sử dụng để tạo ra kháng thể mà cặp thứ nhất có nguồn gốc từ đó. Cụ thể hơn, các kháng nguyên được nhận biết bởi cặp thứ nhất và cặp thứ hai có thể là giống nhau, nhưng tốt hơn là, các cặp này liên kết với các kháng nguyên khác nhau (hoặc các epitop). Trong trường hợp này, các chuỗi H và các chuỗi L của cặp thứ nhất và cặp thứ hai tốt hơn là có các trình tự axit amin khác nhau. Khi cặp thứ nhất và cặp thứ hai liên kết với các epitop khác nhau, cặp thứ nhất và cặp thứ hai có thể nhận biết các kháng nguyên hoàn toàn khác nhau, hoặc chúng có

thể nhận biết các vị trí khác nhau (các epitop khác nhau) trên cùng một kháng nguyên. Ngoài ra, một trong chúng có thể nhận biết kháng nguyên như protein, peptit, gen, hoặc đường, và cặp còn lại có thể nhận biết các chất độc tế bào như chất phóng xạ, chất hoá trị liệu, hoặc độc tố có nguồn gốc từ tế bào. Tuy nhiên, khi muốn tạo ra kháng thể có các cặp được tạo thành bởi các tổ hợp cụ thể của các chuỗi H và các chuỗi L, các chuỗi H và các chuỗi L cụ thể này có thể được tuỳ ý xác định là cặp thứ nhất và cặp thứ hai.

Sự giải thích chi tiết hơn được trình bày dưới đây trong trường hợp kháng thể đặc hiệu kép loại IgG có hai loại vùng hằng định chuỗi nặng CH1 (CH1-A và CH1-B) và hai loại vùng hằng định chuỗi nhẹ (CL-A và CL-B); tuy nhiên, sáng chế cũng có thể được áp dụng một cách tương tự cho các kháng thể khác.

Khi muốn thu được kháng thể đặc hiệu kép mà sẽ nhận biết một epitop bằng CH1-A thứ nhất và CL-A thứ nhất, và liên kết với một epitop khác bằng CH1-B thứ hai và CL-B thứ hai, theo lý thuyết thì có thể có 10 loại phân tử kháng thể có thể được tạo ra khi mỗi trong số bốn loại chuỗi được biểu hiện để tạo ra kháng thể đó.

Trong trường hợp này, có thể thu được một cách ưu tiên phân tử kháng thể mong muốn nếu, ví dụ, sự kết hợp được kiểm soát sao cho ngăn cản sự kết hợp của CH1-A và CL-B và/hoặc giữa CH1-B và CL-A.

Ví dụ là làm biến đổi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CH1-A và CL-B thành các gốc axit amin điện tích dương và làm biến đổi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CH1-B và CL-A thành các gốc axit amin điện tích âm. Kết quả của các biến đổi này là, sự kết hợp không mong muốn giữa CH1-A và CL-B được ngăn cản vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách đều có điện tích dương, và sự kết hợp giữa CH1-B và CL-A cũng được ngăn cản vì các gốc axit amin tạo thành mặt

phân cách đều có điện tích âm. Do đó, sự kết hợp không mong muốn giữa CH1-A và CL-B và sự kết hợp giữa CH1-B và CL-A được ngăn cản vì các gốc axit amin tạo thành các mặt phân cách có cùng điện tích với nhau. Kết quả là, có thể thu được một cách có hiệu quả các kháng thể có sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A, và sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B. Ngoài ra, sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A được thúc đẩy vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách có các loại điện tích khác nhau; và sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B cũng được thúc đẩy vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách có các loại điện tích khác nhau. Kết quả là, có thể thu được một cách có hiệu quả các kháng thể có sự kết hợp mong muốn.

Một ví dụ khác là làm biến đổi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CH1-A và CL-B thành các gốc axit amin điện tích dương, khi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CL-A và CH1-B đều không có điện tích hoặc là các axit amin không có cực. Kết quả của biến đổi này là, sự kết hợp không mong muốn giữa CH1-A và CL-B được ngăn cản vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách đều có điện tích dương. Mặt khác, vì các gốc axit amin tạo thành các mặt phân cách là các axit amin không đẩy điện tích với nhau, nên sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A, và sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B sẽ diễn ra dễ dàng hơn trường hợp mà các axit amin đẩy điện tích với nhau. Kết quả là, có thể thu được một cách có hiệu quả các kháng thể có sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A, và sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B. Đồng thời, trong ví dụ này, trong trường hợp mà các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CL-A và CH1-B không phải đều không có điện tích hoặc không phải là các axit amin không có cực, chúng có thể được biến đổi để trở thành không có điện tích hoặc các axit amin không có cực.

Ngoài ra, trong một ví dụ khác, khi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách

giữa CL-B và CH1-B không có điện tích hoặc là các axit amin không có cực trong CH1-B, thì một trong số các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CH1-A và CL-A này được biến đổi thành gốc axit amin điện tích dương trong khi gốc axit amin còn lại được biến đổi thành gốc axit amin điện tích âm; và các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CL-B và CH1-B trong CL-B được biến đổi để có cùng điện tích giống như biến đổi được tạo ra cho CH1-A. Kết quả của biến đổi này là, trong khi sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A được thúc đẩy vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách là tổ hợp của điện tích dương và điện tích âm, sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B không bị ngăn cản vì các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách là các axit amin không đẩy điện tích với nhau. Kết quả là, có thể thu được một cách có hiệu quả kháng thể có sự kết hợp mong muốn giữa CH1-A và CL-A, và sự kết hợp mong muốn giữa CH1-B và CL-B. Đồng thời, trong ví dụ này, khi các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách giữa CL-B và CH1-B không phải là không có điện tích hoặc không phải là các axit amin không có cực trong CH1-B, chúng có thể được biến đổi để trở thành không có điện tích hoặc các axit amin không có cực.

Ngoài ra, việc sử dụng sự kiểm soát kết hợp theo sáng chế có thể ngăn cản sự kết hợp giữa các CH1 (CH1-A và CH1-B), hoặc sự kết hợp giữa các CL (CL-A và CL-B).

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định một các phù hợp loại gốc axit amin tiến lại gần nhau trong quá trình kết hợp ở mặt phân cách CH1 và CL trong polypeptit mong muốn mà có sự kiểm soát kết hợp được mong muốn theo sáng chế.

Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể cũng có thể thu được một cách phù hợp các trình tự có thể được sử dụng như CH1 hoặc CL của kháng thể trong sinh vật như con người, khỉ, chuột nhắt, thỏ, và các sinh vật tương tự

bằng cách sử dụng cơ sở dữ liệu công cộng và cơ sở dữ liệu tương tự. Cụ thể hơn, thông tin về trình tự axit amin của CH1 hoặc CL có thể thu được bằng các phương tiện được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ, đối với kháng thể đặc hiệu kép được mô tả trong các ví dụ dưới đây, các ví dụ cụ thể về các gốc axit amin tiến lại gần nhau (đối diện hoặc tiếp xúc) ở mặt phân cách của CH1 và CL ngay khi kết hợp bao gồm các tổ hợp được thể hiện dưới đây:

- glutamin (Q) ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU trong CH1 và threonin (T) phía đối diện (tiếp xúc) hoặc serin (S) ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat trong CL;

- glutamin (Q) ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU trong CH1 và threonin (T) phía đối diện (tiếp xúc) hoặc serin (S) ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat trong CL;

- glutamin (Q) ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU trong CH1 và serin (S) phía đối diện (tiếp xúc) hoặc threonin (T) ở vị trí 131 và serin (S) hoặc threonin (T) ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat trong CL; và,

- lysin (K) ở vị trí 147 và glutamin (Q) ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU trong CH1 và serin (S) phía đối diện (tiếp xúc) hoặc threonin (T) ở vị trí 131 và serin (S) hoặc threonin (T) ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat trong CL.

Các số nêu trên được mô tả theo quy ước đánh số EU theo sáng chế được chỉ định theo quy ước đánh số EU (Sequences of proteins of immunological interest, Công bố NIH số 91-3242). Theo sáng chế, thuật ngữ "gốc axit amin ở vị trí X theo quy ước đánh số EU" và "axit amin ở vị trí X theo quy ước đánh số EU" (trong đó X là số tuỳ ý) cũng có thể được đọc như "gốc axit amin tương ứng với ví trí X theo quy ước đánh

số EU" và "axit amin tương ứng với ví trí X theo quy ước đánh số EU". Như được thể hiện trong các ví dụ được mô tả dưới đây, phân tử liên kết kháng nguyên mong muốn có thể ưu tiên thu được bằng cách làm biến đổi các gốc axit amin này và tiến hành các phương pháp theo sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, trong đó một hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên là các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau:

(a) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat;

(b) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat; và

(c) các gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat.

Trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, "các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau" hoặc "các gốc axit amin có cùng điện tích" tốt hơn là được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong, ví dụ, tập hợp (X) hoặc (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D); hoặc

(Y) lysin (K), arginin (R), hoặc histidin (H).

Trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, các ví dụ cụ thể về các tập hợp

của các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin dưới đây:

(a) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU;

(b) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat;

(c) các gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat;

(d) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat.

Sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó một hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a1) đến (c2) dưới đây trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên là các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau:

(a1) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(a2) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R);

(b1) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số

EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(b2) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R);

(c1) mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(c2) mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R).

Trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, các ví dụ cụ thể về các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau bao gồm các gốc axit amin dưới đây:

(a1) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(a2) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R);

(b1) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và gốc axit amin được bao gồm trong

CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(b2) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R);

(c1) mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(c2) mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R);

(d1) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D);

(d2) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R), và mỗi gốc axit amin được bao gồm trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU là lysin (K), histidin (H), hoặc arginin (R).

Ngoài ra phần mô tả trên đây, kỹ thuật ngăn cản sự kết hợp không mong muốn của CH1/CL bằng cách đưa vào lực điện tích trên mặt phân cách giữa CH1 và CL (WO 2013/065708) cũng có thể được áp dụng vào phân tử liên kết kháng nguyên theo

sáng chế. Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất phân tử liên kết kháng nguyên có CH1 và CL, trong đó một hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (d) dưới đây đẩy điện tích với nhau:

(a) gốc axit amin được bao gồm trong vùng hằng định chuỗi nặng (CH1) ở vị trí 147 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong vùng hằng định chuỗi nhẹ (CL) ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU;

(b) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 147 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU;

(c) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 160 theo quy ước đánh số EU;

(d) gốc axit amin được bao gồm trong CH1 ở vị trí 213 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin được bao gồm trong CL ở vị trí 123 theo quy ước đánh số EU.

Kỹ thuật đưa lực đẩy điện tích vào mặt phân cách của vùng hằng định thứ hai của chuỗi nặng (CH2) hoặc vùng hằng định thứ ba của chuỗi nặng (CH3) để ngăn cản sự kết hợp không mong muốn giữa các chuỗi nặng, kỹ thuật đưa lực đẩy điện tích vào mặt phân cách của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ để ngăn cản sự kết hợp không mong muốn giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, hoặc kỹ thuật làm biến đổi các gốc axit amin tạo thành lõi kỵ nước trong mặt phân cách của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thành các axit amin có cực có điện tích để ngăn cản sự kết hợp không mong muốn giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ còn có thể áp dụng cho phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế (xem WO 2006/106905).

Trong kỹ thuật ngăn cản sự kết hợp không mong muốn giữa các chuỗi nặng

bằng cách đưa vào lực đẩy điện tích ở mặt phân cách của CH2 hoặc CH3, các ví dụ về các gốc axit amin tiếp xúc ở mặt phân cách của các vùng hằng định khác của chuỗi nặng bao gồm các vùng tương ứng với vị trí 356 (quy ước đánh số EU) và vị trí 439 (quy ước đánh số EU), vị trí 357 (quy ước đánh số EU) và vị trí 370 (quy ước đánh số EU), và vị trí 399 (quy ước đánh số EU) và vị trí 409 (quy ước đánh số EU) trong vùng CH3. Đối với việc đánh số các vùng hằng định kháng thể, một cách đánh số đề cấp đến công bố của Kabat et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH); và đối với việc đánh số các vùng hằng định chuỗi nặng, quy ước đánh số EU được thể hiện.

Cụ thể hơn, ví dụ, trong phân tử liên kết kháng nguyên chứa hai loại vùng CH3 chuỗi nặng, từ một đến ba tập hợp của các gốc axit amin trong vùng CH3 chuỗi nặng thứ nhất, được chọn từ các tập hợp của các gốc axit amin từ (1) đến (3) dưới đây, có thể được tạo ra để đẩy điện tích với nhau:

(1) các gốc axit amin được bao gồm trong vùng CH3 chuỗi nặng ở vị trí 356 và vị trí 439 theo quy ước đánh số EU;

(2) các gốc axit amin được bao gồm trong vùng CH3 chuỗi nặng ở vị trí 357 và vị trí 370 theo quy ước đánh số EU; và

(3) các gốc axit amin được bao gồm trong vùng CH3 chuỗi nặng ở vị trí 399 và vị trí 409 theo quy ước đánh số EU.

Ngoài ra, kháng thể này có thể là kháng thể có tập hợp của các gốc axit amin trong vùng CH3 chuỗi nặng thứ hai phân biệt với vùng CH3 chuỗi nặng thứ nhất nêu trên, trong đó tập hợp này của các gốc axit amin được chọn từ các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (1) đến (3) trên đây, và trong đó từ một đến ba tập hợp của các gốc axit amin tương ứng với các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ

(1) đến (3) trên đây, đẩy điện tích với nhau trong vùng CH3 chuỗi nặng thứ nhất, không đẩy điện tích ra khỏi các gốc axit amin tương ứng trong vùng CH3 chuỗi nặng thứ nhất.

Các gốc axit amin được mô tả từ (1) đến (3) trên đây tiến gần nhau ngay khi kết hợp. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ có thể tìm các vị trí tương ứng với các gốc axit amin được mô tả từ (1) đến (3) nêu trên cho vùng hằng định chuỗi nặng hoặc vùng CH3 chuỗi nặng mong muốn bằng cách tạo mô hình tương đồng và kỹ thuật tương tự sử dụng phần mềm có bán thương mại, và để làm biến đổi phù hợp các gốc axit amin ở các vị trí này.

Trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, "sự đẩy điện tích" hoặc "có cùng điện tích" có nghĩa là, ví dụ, hai hoặc nhiều gốc axit amin bất kỳ có các gốc axit amin được bao gồm trong một nhóm trong (X) và (Y) nêu trên.

Theo phương án được ưu tiên về phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, vùng CH3 chuỗi nặng thứ nhất và vùng CH3 chuỗi nặng thứ hai có thể được liên kết ngang bằng các liên kết disulfit.

Theo sáng chế, gốc axit amin được “biến đổi" không giới hạn ở gốc axit amin trong vùng biến đổi của phân tử liên kết kháng nguyên hoặc vùng hằng định kháng thể nêu trên. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ có thể tìm được các gốc axit amin tạo thành mặt phân cách trong biến thể polypeptit hoặc multime khác loại bằng cách tạo mô hình tương đồng và các kỹ thuật tương tự sử dụng phần mềm có bán thương mại, và để biến đổi các gốc axit amin ở các vị trí này để kiểm soát sự kết hợp. Tạo mô hình tương đồng là kỹ thuật dự đoán cấu trúc ba chiều của protein sử dụng phần mềm có bán thương mại. Khi xây dựng cấu trúc của protein không biết cấu trúc ba chiều, việc đầu tiên là tìm protein đã được xác định là có cấu trúc ba chiều

tương đồng cao với protein đó. Sau đó, sử dụng cấu trúc ba chiều này làm khuôn, để xây dựng cấu trúc của protein không biết cấu trúc, và cấu trúc này được tối ưu hoá thêm bằng các phương pháp động lực phân tử và các phương pháp tương tự để dự đoán cấu trúc ba chiều của protein chưa biết.

Trong kỹ thuật đưa lực đẩy điện tích vào mặt phân cách của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ để ngăn cản sự kết hợp không mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, ví dụ về các gốc axit amin tiếp xúc ở mặt phân cách của vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) bao gồm glutamin (Q) ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat trong VH (vùng FR2) và glutamin (Q) phía đối diện (tiếp xúc) ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat trong VL (vùng FR2). Ngoài ra, ví dụ được ưu tiên là leuxin (L) ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat trong VH (FR2) và prolin (P) phía đối diện ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat trong VL (FR2). Công bố của Kabat, et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequence of Proteins of Immunological Interest, NIH) được đề cập để đánh số cho các vị trí này.

Vì các gốc axit amin này được biết là bảo toàn cao ở con người và chuột nhắt (J. Mol. Recognit. 2003; 16: 113-120), nên sự kết hợp của các vùng biến đổi của phân tử liên kết kháng nguyên có thể được kiểm soát cho sự kết hợp VH-VL của các phân tử liên kết kháng nguyên khác với các phân tử được thể hiện trong các ví dụ bằng cách làm biến đổi các gốc axit amin tương ứng với các gốc axit amin nêu trên.

Ví dụ cụ thể là phân tử liên kết kháng nguyên trong đó hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách của VH và VL là các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau. Cụ thể hơn, các ví dụ bao gồm phân tử liên kết kháng nguyên có một tập hợp hoặc hai tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) hoặc (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin được bao gồm trong VH ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat và, gốc axit amin được bao gồm trong VL ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat; hoặc

(b) gốc axit amin được bao gồm trong VH ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin được bao gồm trong VL ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat.

Mỗi gốc axit amin được mô tả trong (a) hoặc (b) nêu trên tiếp gần nhau ngay khi kết hợp. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ có thể tìm được các vị trí tương ứng với các gốc axit amin được mô tả trong (a) hoặc (b) nêu trên trong VH hoặc VL mong muốn bằng cách tạo mô hình tương đồng và kỹ thuật tương tự sử dụng phần mềm có bán thương mại, và để làm biến đổi phù hợp các gốc axit amin ở các vị trí này.

Trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên, "các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau" tốt hơn là được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong, ví dụ, một trong hai tập hợp (X) và (Y) dưới đây:

(X) axit glutamic (E) hoặc axit aspartic (D); hoặc

(Y) lysin (K), arginin (R), hoặc histidin (H).

Trong kỹ thuật làm biến đổi các gốc axit amin tạo thành lõi kỵ nước trong mặt phân cách của VH và VL thành các axit amin có cực có điện tích để ngăn cản sự kết hợp không mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, ví dụ được ưu tiên về các gốc axit amin có thể tạo thành lõi kỵ nước ở mặt phân cách của VH và VL bao gồm leuxin (L) ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat trong VH (FR2), và prolin (P) phía đối diện ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat trong VL (FR2). Để đánh số cho các ví trí này,

Kabat, et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH) được sử dụng làm tài liệu tham chiếu.

Thông thường, thuật ngữ "lõi kỵ nước" đề cập đến phần được tạo thành bởi sự kết hợp của các chuỗi bên của axit amin kỵ nước ở bên trong các polypeptit có liên quan. Ví dụ về các axit amin kỵ nước bao gồm alanin, isoleuxin, leuxin, methionin, phenylalanin, prolin, tryptophan, và valin. Ngoài ra, các gốc axit amin khác ngoài các axit amin kỵ nước (ví dụ, tyrosin) có thể liên quan đến sự tạo thành của lõi kỵ nước. Lõi kỵ nước này cùng với bề mặt ưa nước, trong đó các chuỗi bên của axit amin ưa nước tiếp xúc với bên ngoài, trở thành động lực thúc đẩy sự kết hợp của các polypeptit tan trong nước. Khi các axit amin kỵ nước của hai miền khác nhau có mặt trên bề mặt phân tử và được tiếp xúc với các phân tử nước, thì entropi sẽ tăng lên và năng lượng tự do sẽ tăng lên. Theo đó, hai miền này sẽ kết hợp với nhau để làm giảm năng lượng tự do và trở nên ổn định, và các axit amin kỵ nước ở mặt phân cách sẽ được chìm vào bên trong của phân tử để tạo thành lõi kỵ nước.

Được cho là khi diễn ra sự kết hợp polypeptit, sự tạo thành lõi kỵ nước được ngăn cản bằng cách làm biến đổi các axit amin kỵ nước tạo thành lõi kỵ nước thành các axit amin có cực có điện tích; và kết quả là, sự kết hợp polypeptit được cho là bị ngăn cản.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật sẽ có thể nhận biết được sự có mặt hoặc không của lõi kỵ nước, vị trí (vùng) tạo thành, và tương tự bằng cách phân tích các trình tự axit amin cho phân tử liên kết kháng nguyên mong muốn. Cụ thể là, phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế là phân tử liên kết kháng nguyên được đặc trưng bởi các gốc axit amin có khả năng tạo ra lõi kỵ nước ở mặt phân cách được biến đổi thành các gốc axit amin có điện tích. Cụ thể hơn, các ví dụ bao gồm phân tử liên kết kháng nguyên trong đó các gốc axit amin được thể hiện trong (1) hoặc (2) dưới

đây là các gốc axit amin có điện tích. Các chuỗi bên của các gốc axit amin được thể hiện trong (1) và (2) dưới đây là liền kề với nhau, và có thể tạo thành lõi kỵ nước:

(1) gốc axit amin được bao gồm trong VH ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat; và

(2) gốc axit amin được bao gồm trong VL ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat.

Ví dụ được ưu tiên về các gốc axit amin có điện tích trong phân tử liên kết kháng nguyên nêu trên bao gồm axit glutamic (E), axit aspartic (D), lysin (K), arginin (R) và histidin (H). Các ví dụ được ưu tiên hơn bao gồm axit glutamic (E) và lysin (K).

Thông thường, các gốc axit amin được mô tả trong (1) và (2) nêu trên ở con người và chuột nhắt lần lượt là:

(1) leuxin (L), và

(2) prolin (P).

Do đó, trong phương án được ưu tiên theo sáng chế, các gốc axit amin này được biến đổi (như thay thế với các axit amin có điện tích). Ngoài ra, các loại gốc axit amin nêu trên trong (1) và (2) không nhất thiết là bị giới hạn ở các gốc axit amin nêu trên, mà cũng có thể là các axit amin khác tương đương với các gốc axit amin này.

Các kỹ thuật đã biết khác có thể được áp dụng cho phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Ví dụ, để thúc đẩy sự kết hợp của VH thứ nhất (VH1) và VL thứ nhất (VL1) và/hoặc VH thứ hai (VH2) và VL thứ hai (VL2), chuỗi bên axit amin có mặt trong vùng biến đổi của một trong các chuỗi H có thể được thay thế bằng chuỗi bên lớn hơn (núm), và chuỗi axit amin có mặt trong vùng biến đổi đối diện của chuỗi H còn lại có thể được thay thế bằng chuỗi bên nhỏ hơn (lỗ), sao cho núm có thể được

sắp xếp trong lỗ, và sự kết hợp của VH1 và VL1 và/hoặc VH2 và VL2 được thúc đẩy; và kết quả là, sự kết hợp của VH1 và VL2 và/hoặc VH2 và VL1 có thể được ngăn cản thêm (WO 1996/027011; Ridgway, J.B., et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621; Merchant, A.M., et al., Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681).

Ví dụ, trong trường hợp của IgG1 người, để khiến cho chuỗi bên axit amin trong vùng CH3 của một chuỗi H trở thành chuỗi bên lớn hơn (núm), các biến đổi của Y349C và T366W được thực hiện, và để khiến cho chuỗi bên axit amin trong vùng CH3 của chuỗi H còn lại trở thành chuỗi bên nhỏ hơn, các biến đổi của D356C, T336S, L368A và Y407V được thực hiện.

Các kỹ thuật đã biết khác nữa có thể được áp dụng cho phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Phân tử liên kết kháng nguyên đích có thể được điều chế một cách hiệu quả bằng cách kết hợp bổ sung của CH3 sử dụng CH3 miền được thao tác di truyền hoán đổi mạch, trong đó một phần của CH3 trong một chuỗi H của phân tử liên kết kháng nguyên được thay đổi thành trình tự có nguồn gốc từ IgA tương ứng với phần đó, và phần bổ sung của CH3 trong chuỗi H còn lại được đưa vào với trình tự có nguồn gốc từ IgA tương ứng với phần đó (Protein Engineering Design & Selection, 23: 195-202, 2010).

Các kỹ thuật đã biết khác nữa có thể được áp dụng cho phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Khi sản xuất kháng thể đặc hiệu kép, kháng thể đặc hiệu kép đích có thể được điều chế bằng cách, ví dụ, tạo ra sự khác nhau về điểm đẳng điện bằng cách tạo ra các biến đổi axit amin khác nhau cho mỗi vùng biến đổi của hai loại chuỗi H, và sử dụng sự khác nhau về điểm đẳng điện này để tinh chế bằng sắc ký trao đổi ion (WO 2007/114325).

Kỹ thuật làm biến đổi gốc axit amin ở vị trí 435 theo quy ước đánh số EU, là vị

trí có liên quan đến liên kết giữa IgG và protein A, thành axit amin có độ mạnh liên kết khác với protein A, như Arg, cũng có thể được sử dụng trên phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế với sự kết hợp với các kỹ thuật nêu trên. Bằng cách sử dụng kỹ thuật này, sự tương tác giữa chuỗi H và protein A có thể được thay đổi, và chỉ có phân tử liên kết kháng nguyên heterodime có thể được tinh chế một cách hiệu quả bằng cách sử dụng cột protein A. Kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng một cách độc lập mà không có sự kết hợp với kỹ thuật nêu trên.

Các biến đổi theo sáng chế có thể được sử dụng trên phân tử liên kết kháng nguyên như biến đổi dưới đây, ví dụ, phân tử liên kết kháng nguyên có cấu trúc trong đó, để thúc đẩy sự kết hợp của VH thứ nhất (VH1) và VL thứ nhất (VL1) và/hoặc VH thứ hai (VH2) và VL thứ hai (VL2), VH1 được liên kết với vùng Fc thông qua CH1 thứ nhất và VL1 được liên kết với CL thứ nhất, và VH2 được liên kết với một vùng Fc khác thông qua CL thứ hai và VL2 được liên kết với CH1 thứ hai (WO 09/80254).

Nhiều, ví dụ, hai hoặc hơn hai kỹ thuật đã biết nêu trên có thể được sử dụng kết hợp cho phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Ngoài ra, phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được điều chế dựa trên kháng thể trong đó có các biến đổi được tạo ra bởi các kỹ thuật đã biết nêu trên.

Các phương pháp dưới đây theo sáng chế kiểm soát sự kết hợp cho phép, ví dụ, sản xuất hiệu quả phân tử liên kết kháng nguyên có hoạt tính. Ví dụ về các hoạt tính này bao gồm hoạt tính liên kết, hoạt tính trung hoà, hoạt tính độc tế bào, hoạt tính chủ vận, hoạt tính đối kháng, hoạt tính enzym và các hoạt tính tương tự. Hoạt tính chủ vận là hoạt tính tạo ra một số loại thay đổi về hoạt tính sinh lý thông qua sự liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên với kháng nguyên, như thụ thể, tạo ra sự truyền tín hiệu hoặc tương tự trong tế bào. Các ví dụ về hoạt tính sinh lý bao gồm hoạt tính sinh trưởng, hoạt tính sinh tồn, hoạt tính biệt hoá, hoạt tính phiên mã, hoạt tính vận chuyển

qua màng, hoạt tính liên kết, hoạt tính phân giải protein, hoạt tính phosphoryl hoá/khử phosphoryl, hoạt tính oxy hoá-khử, hoạt tính vận chuyển, hoạt tính thuỷ phân axit nucleic, hoạt tính khử nước, hoạt tính gây chết tế bào, và hoạt tính gây chế tế bào theo chương trình và các hoạt tính tương tự, nhưng không giới hạn ở các hoạt tính này.

Các phân tử liên kết kháng nguyên liên kết với các kháng nguyên mong muốn hoặc liên kết với các thụ thể mong muốn có thể có thể được sản xuất một cách hiệu quả bằng các phương pháp theo sáng chế.

Các kháng nguyên theo sáng chế là không giới hạn cụ thể, và loại kháng nguyên bất kỳ có thể được sử dụng. Ví dụ về các kháng nguyên bao gồm các thụ thể hoặc các đoạn của chúng, các kháng nguyên ung thư, các kháng nguyên MHC, và các kháng nguyên biệt hoá và các kháng nguyên tương tự, nhưng không giới hạn cụ thể ở đó.

Ví dụ về các thụ thể theo sáng chế bao gồm các thụ thể thuộc họ thụ thể yếu tố tạo máu, họ thụ thể cytokin, họ thụ thể loại tyrosin kinaza, họ thụ thể loại serin/threonin kinaza, họ thụ thể TNF, họ thụ thể bắt cặp protein G, họ thụ thể neo giữ GPI, họ thụ thể loại tyrosin phosphataza, họ thụ thể kết dính, họ thụ thể hormon, và các họ thụ thể tương tự. Các báo cáo về các thụ thể thuộc các họ thụ thể này và các đặc trưng của chúng có thể tìm thấy trong các nguồn và các tài liệu khác nhau, ví dụ, trong Cooke BA., King RJB., van der Molen HJ. ed. New Comprehensive Biochemistry quyển 18B "Hormones and their Actions Part II" trang 1-46 (1988) Elsevier Science Publishers BV., New York, USA; Patthy L. (1990) Cell, 61: 13-14; Ullrich A., *et al.* (1990) Cell, 61: 203-212; Massagul J. (1992) Cell, 69: 1067-1070; Miyajima A., *et al.* (1992) Annu. Rev. Immunol., 10: 295-331; Taga T. và Kishimoto T. (1992) FASEB J., 7: 3387-3396; Fantl WI., *et al.* (1993) Annu. Rev. Biochem., 62: 453-481; Smith CA., *et al.* (1994) Cell, 76: 959-962; Flower DR. (1999) Biochim. Biophys. Acta, 1422: 207-234; Miyasaka M. ed. Cell Technology, loại cẩm nang "Handbook for adhesion

factors" (1994) Shujunsha, Tokyo, Japan; và các nguồn và các tài liệu tương tự. Ví dụ về các thụ thể cụ thể thuộc các họ thụ thể nêu trên bao gồm thụ thể erythropoietin (EPO) của người hoặc chuột nhắt, thụ thể yếu tố kích thích bạch cầu hạt (G-CSF: granulocyte-colony stimulating factor) của người hoặc chuột nhắt, thụ thể thrombopoietin (TPO) của người hoặc chuột nhắt, thụ thể insulin của người hoặc chuột nhắt, thụ thể phối tử Flt-3 của người hoặc chuột nhắt, thụ thể yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu (PDGF: platelet-derived growth factor) của người hoặc chuột nhắt, thụ thể interferon (IFN)-α hoặc -β của người hoặc chuột nhắt, thụ thể leptin của người hoặc chuột nhắt, thụ thể hormon sinh trưởng (GH: growth hormone) của người hoặc chuột nhắt, thụ thể interleukin (IL) 10 của người hoặc chuột nhắt, thụ thể yếu tố sinh trưởng giống insulin (IGF: insulin-like growth factor) I của người hoặc chuột nhắt, thụ thể ức chế bệnh bạch cầu (LIF: leukemia inhibitory factor) của người hoặc chuột nhắt, và thụ thể yếu tố dinh dưỡng tế bào thần kinh ở thể mi (CNTF: ciliary neurotrophic factor) của người hoặc chuột nhắt (hEPOR: Simon, S. *et al.* (1990) Blood 76, 31-35; mEPOR: D'Andrea, AD. *et al.* (1989) Cell 57, 277-285; hG-CSFR: Fukunaga, R. *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 8702-8706; mG-CSFR: Fukunaga, R. *et al.* (1990) Cell 61, 341-350; hTPOR: Vigon, I. *et al.* (1992) 89, 5640-5644.; mTPOR: Skoda, RC. *et al.* (1993) 12, 2645-2653; hInsR: Ullrich, A. *et al.* (1985) Nature 313, 756-761; hFlt-3: Small, D. *et al.* (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91, 459-463; hPDGFR: Gronwald, RGK. *et al.* (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 3435-3439; hIFN α/β R: Uze, G. *et al.* (1990) Cell 60, 225-234; và Novick, D. *et al.* (1994) Cell 77, 391-400).

Các kháng nguyên ung thư là các kháng nguyên được biểu hiện theo sự biến đổi ác tính của tế bào, và cũng được đề cập đến như là các kháng nguyên đặc hiệu khối u. Ngoài ra, các chuỗi đường không bình thường xuất hiện trên bề mặt tế bào hoặc trên

phân tử protein khi tế bào này trở thành tế bào ung thư cũng là các kháng nguyên ung thư, và chúng cũng được đề cập đến như các kháng nguyên chuỗi đường ung thư. Ví dụ về các kháng nguyên ung thư bao gồm EpCAM, được biểu hiện ở nhiều bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư phổi (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86 (1), 27-31) (trình tự polynucleotit của nó được thể hiện dưới dạng số truy cập RefSeq NM_002354.2 và trình tự polypeptit của nó được thể hiện dưới dạng số truy cập RefSeq NP_002345.2), CA19-9, CA15-3, sialyl SSEA-1 (SLX), v.v...

Các kháng nguyên MHC có thể được phân loại chung thành các kháng nguyên MHC lớp I và các kháng nguyên MHC lớp II: Các kháng nguyên MHC lớp I bao gồm HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G, và -H; và các kháng nguyên MHC lớp II bao gồm HLA-DR, -DQ, và -DP.

Các kháng nguyên biệt hoá bao gồm CD1, CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD23, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD33, CD34, CD35, CD38, CD40, CD41a, CD41b, CD42a, CD42b, CD43, CD44, CD45, CD45RO, CD48, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD51, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD64, CD69, CD71, CD73, CD95, CD102, CD106, CD122, CD126, và CDw130.

Phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể là kháng thể đặc hiệu kép; và trong trường hợp đó, hai kháng nguyên (hoặc epitop) được nhận biết bởi kháng thể này có thể được chọn tuỳ ý từ các thụ thể nêu trên hoặc các đoạn của chúng, các kháng nguyên ung thư, các kháng nguyên MHC, các kháng nguyên biệt hoá và các kháng nguyên tương tự. Ví dụ, hai kháng nguyên có thể là được chọn từ các thụ thể hoặc các đoạn của chúng, hai kháng nguyên này có thể là được chọn từ các kháng nguyên ung thư, hai kháng nguyên này có thể là được chọn từ các kháng nguyên MHC, hoặc hai

kháng nguyên này có thể là được chọn từ các kháng nguyên biệt hoá. Ngoài ra, mỗi một kháng nguyên có thể là được chọn từ hai kháng nguyên được chọn tuỳ ý từ, ví dụ, các thụ thể hoặc các đoạn của chúng, các kháng nguyên ung thư, các kháng nguyên MHC, và các kháng nguyên biệt hoá.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát. Phương án ưu tiên về phương pháp sản xuất theo sáng chế là phương pháp sản xuất phân tử liên kết kháng nguyên trong đó sự kết hợp giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kiểm soát, phương pháp này bao gồm các bước:

(1) làm biến đổi các axit nucleic mã hoá CH1 và CL sao cho một tập hợp hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau:

(a) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số Kabat, và

(c) các gốc axit amin trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số Kabat;

(2) đưa các axit nucleic đã được biến đổi này vào tế bào chủ và nuôi cấy tế bào chủ sao cho các axit nucleic này được biểu hiện; và

(3) thu phân tử liên kết kháng nguyên từ mẫu nuôi cấy tế bào chủ.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất bao gồm, trong bước (1)

nêu trên, bước làm biến đổi các axit nucleic sao cho các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau được chọn từ trong số các gốc axit amin được bao gồm trong một trong các nhóm (X) và (Y) nêu trên.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất bao gồm trong bước (1) nêu trên, bước làm biến đổi các axit nucleic sao cho hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách của VH và VL là các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau. Tốt hơn là, các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau là tập hợp bất kỳ của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm, ví dụ, các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) và (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin được bao gồm trong VH ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin được bao gồm trong VL ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat; hoặc

(b) gốc axit amin được bao gồm trong VH ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin được bao gồm trong VL ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat.

Các gốc axit amin đẩy điện tích với nhau nhau nêu trên tốt hơn là được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong một trong các tập hợp (X) và (Y) nêu trên.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp kiểm soát sự kết hợp của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên. Phương án ưu tiên về phương pháp kiểm soát sự kết hợp theo sáng chế là phương pháp kiểm soát sự kết hợp của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của phân tử liên kết kháng nguyên, bao gồm bước làm biến đổi các axit nucleic sao cho một tập hợp hoặc hai hoặc nhiều tập hợp của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện từ (a) đến (c) dưới đây là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau:

(a) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 180 theo quy ước đánh số EU,

(b) gốc axit amin trong CH1 ở vị trí 175 theo quy ước đánh số EU, và gốc axit amin trong CL ở vị trí 131 theo quy ước đánh số EU, và

(c) các gốc axit amin trong CH1 ở các vị trí 147 và 175 theo quy ước đánh số EU, và các gốc axit amin trong CL ở các vị trí 131 và 180 theo quy ước đánh số EU.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp kiểm soát sự kết hợp bao gồm, trong bước (1) nêu trên, bước làm biến đổi các axit nucleic sao cho các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong nhóm (X) hoặc (Y) nêu trên.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp kiểm soát sự kết hợp bao gồm, trong bước (1) nêu trên, bước làm biến đổi các axit nucleic sao cho hai hoặc nhiều gốc axit amin tạo thành mặt phân cách VH-VL là các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau. Ở đây, các gốc axit amin đẩy tĩnh điện lẫn nhau tốt hơn là một tập hợp bất kỳ của các gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm, ví dụ, các tập hợp của các gốc axit amin được thể hiện trong (a) và (b) dưới đây:

(a) gốc axit amin trong VH ở vị trí 39 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong VL ở vị trí 38 theo quy ước đánh số Kabat,

(b) gốc axit amin trong VH ở vị trí 45 theo quy ước đánh số Kabat, và gốc axit amin trong VL ở vị trí 44 theo quy ước đánh số Kabat.

Theo phương pháp kiểm soát sự kết hợp theo sáng chế, kháng thể đặc hiệu kép mong muốn có thể thu được một cách ưu tiên và hiệu quả như được mô tả trước đó. Cụ thể là, multime khác loại mong muốn dưới dạng kháng thể đặc hiệu kép có thể

được tạo thành một cách hiệu quả từ hỗn hợp monome.

Thuật ngữ "làm biến đổi các axit nucleic" trong các phương pháp nêu trên theo sáng chế đề cập đến việc làm biến đổi các axit nucleic sao cho chúng tương ứng với các gốc axit amin được đưa vào bằng "các biến đổi" theo sáng chế. Cụ thể hơn, nó đề cập đến việc làm biến đổi các axit nucleic mã hoá các gốc axit amin ban đầu (trước khi bị biến đổi) thành các axit nucleic mã hoá các gốc axit amin được đưa vào biến đổi. Thông thường, nó có nghĩa là việc thực hiện các thao tác gen hoặc xử lý đột biến mà tạo ra ít nhất một đột biến gắn xen, mất, hoặc thay thế nucleotit cho axit nucleic ban đầu sao cho tạo thành các codon mã hoá các gốc axit amin được quan tâm. Cụ thể hơn, các codon mã hoá các gốc axit amin ban đầu được thay thế bằng các codon mã hoá các gốc axit amin được đưa vào biến đổi. Biến đổi axit nucleic như vậy có thể được tiến hành một cách phù hợp bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết như gây đột biến đặc hiệu điểm và gây đột biến PCR.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất các axit nucleic mã hoá phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Hơn nữa, các vectơ mang các axit nucleic cũng được bao gồm trong sáng chế.

Thêm vào đó, sáng chế đề cập đến các dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế và chất mang dược dụng. Theo sáng chế, dược phẩm thường đề cập đến dược chất để điều trị hoặc ngăn ngừa, hoặc kiểm tra và chuẩn đoán các bệnh.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được điều chế kết hợp với các dược chất khác, nếu cần. Ví dụ, chúng có thể được sử dụng ngoài đường tiêu hoá dưới dạng tiêm dung dịch

vô trùng hoặc huyền phù với nước hoặc dung dịch chấp nhận dược khác. Ví dụ, chúng có thể được điều chế dưới dạng các liều đơn vị đáp ứng các yêu cầu cho việc bào chế dược phẩm bằng cách kết hợp một cách phù hợp với các chất mang dược dụng hoặc môi trường, cụ thể là với nước vô trùng, nước muối sinh lý, dầu thực vật, chất nhũ hoá, huyền phù, chất tẩy, chất ổn định, chất điều vị, tá dược, tá dược lỏng, chất bảo quản, chất liên kết, hoặc các chất tương tự. Trong các chế phẩm như vậy, lượng thành phần hoạt tính được điều chỉnh sao cho liều nằm trong phạm vi định trước phù hợp.

Các axit amin được bao gồm trong các trình tự axit amin theo sáng chế có thể được biến đổi sau dịch mã (ví dụ, sự biến đổi của glutamin đầu cùng N thành axit pyroglutamic bằng quá trình pyroglutamic hóa là được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này). Trong tự nhiên, các axit amin được biến đổi sau dịch mã như vậy được bao gồm trong các trình tự axit amin theo sáng chế.

Tất cả các tài liệu trong phần tình trạng kỹ thuật được trích dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

**Ví dụ thực hiện sáng chế**

Dưới đây là các ví dụ về các phương pháp và các chế phẩm theo sáng chế. Cần phải hiểu rằng các phương án khác nhau khác có thể được thực hiện, giả định rằng phần mô tả tổng quát được đề xuất trên đây.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả chi tiết bằng cách minh họa và lấy ví dụ với mục đích làm cho dễ hiểu, nhưng phần mô tả và các ví dụ không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Các phần mô tả của các patent và các tài liệu khoa học được trích dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây một cách rõ ràng bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Ví dụ 1. Tạo ra các chuỗi L mới tương thích với từng chuỗi H của ACE910 (Emicizumab)

ACE910 (Emicizumab) là kháng thể IgG4 được nhân hoá có tính kháng FIX(a) và kháng FX, và thể hiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII. Nó bao gồm hai chuỗi nặng khác nhau (Q499 và J327) tương ứng liên kết với FIX(a) và FX , và chuỗi L chung (L404) (các chuỗi nặng: Các SEQ ID NO: 10 và SEQ ID NO: 11; chuỗi nhẹ: SEQ ID NO: 12). Phương pháp có thể làm giảm khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) và cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII để thu được chuỗi L mới có trình tự hoàn toàn khác với chuỗi L chung từ thư viện kháng thể người, đối với mỗi chuỗi H của kháng thể kháng FIX(a) và kháng thể kháng FX (Q499 và J327). Do đó, các tác giả sáng chế đã thu được các chuỗi L mới như được thể hiện trên Fig. 10 và Bảng 7 theo Ví dụ tham chiếu 1. Trong các ví dụ, FIX(a) đề cập đến FIX và/hoặc FIXa.

Các kháng thể này được kiểm tra khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab). Kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) thu được bằng cách phương pháp dưới đây. Đầu tiên, $F(ab')_2$ chứa Q499/L404 và $F(ab')_2$ chứa J327/L404 từ ACE910(Emicizumab), lần lượt nhận biết FIX(a) và FX, được sử dụng cho các con thỏ, và thu được huyết thanh thỏ kháng Q499/L404 $F(ab')_2$ và huyết thanh thỏ kháng J327/L404 $F(ab')_2$. Các phân đoạn amoni sulfat trong các mẫu huyết thanh này được chảy qua cột gắn IgG người để loại bỏ các kháng thể phản ứng IgG người. Sau đó, tiến hành tinh sạch ái lực bằng cách sử dụng cột gắn Q499/L404 (hoặc J327/L404), và sau đó tiến hành xử lý bằng cột gắn J327/L404 (hoặc Q499/L404) để loại bỏ các kháng thể phản ứng J327/L404 (hoặc Q499/L404) sao cho thu được kháng thể đa dòng kháng idiotyp liên kết đặc hiệu với Q499/L404 (hoặc J327/L404).

Kháng thể kháng idiotyp thu được được sử dụng để đo độ mạnh liên kết của nó

với ACE910 được đánh dấu (Emicizumab) bằng thử nghiệm miễn dịch phát quang điện hóa, trong đó khả năng ức chế liên kết với chất thử nghiệm được đánh giá. Đầu tiên, chất thử nghiệm (kháng thể đặc hiệu kép) được thêm ở nồng độ 0, 1, 3, 10, 30, hoặc 100 µg/mL vào hỗn hợp chứa kháng thể idiotyp Q499/L404, kháng thể idiotyp kháng J327/L404, ACE910 (Emicizumab) được đánh dấu bằng biotin, và ACE910 (Emicizumab) được đánh dấu bằng SULFO-TAG. Hỗn hợp tạo ra được ủ qua đêm trong tủ lạnh. Sau đó, hỗn hợp này được thêm vào đĩa 96 giếng. Sau khi rửa đĩa, độ mạnh liên kết được đo bằng phương pháp phát quang điện hóa.

Ví dụ, kết quả cho kháng thể đặc hiệu kép Q499/QNK131//J327/JNL095 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 45/13//46/31; các vùng hằng định: SEQ ID NO: 95/99//97/101) được thể hiện trong Bảng 2 và kết quả cho Q499/QL20//J327/JL01 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 45/43//46/44; các vùng hằng định: SEQ ID NO: 95/99//97/101) được điều chế trong Ví dụ 3 được thể hiện trên Fig. 1. ACE910 (Emicizumab) đã làm giảm độ mạnh liên kết giữa ACE910 (Emicizumab) được đánh dấu và kháng thể kháng idiotyp theo cách phụ thuộc vào nồng độ của kháng thể được thêm, do đó thể hiện tác dụng ức chế. Mặt khác, các kháng thể có các chuỗi L mới được phát hiện là thể hiện khả năng liên kết giảm đáng kể với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab).

Do đó, các tác giả sáng chế đã thành công thu được các chuỗi L mới mà thể hiện khả năng liên kết giảm đáng kể với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) và có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII, ngay cả khi chúng được ghép cặp với cùng các chuỗi H của ACE910 (Emicizumab) (SEQ ID NO: 45 và SEQ ID NO: 46) Do đó, các kháng thể đặc hiệu kép này được kỳ vọng là có thể được sử dụng cho cả các bệnh nhân rối loạn đông máu A đã tạo ra kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab).

Bảng 2. Kháng thể đặc hiệu kép được kiểm tra khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab)

| Tên dòng vô tính | Vùng biến đổi chuỗi nặng 1 SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 1 SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nặng 2 SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ 2 SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|
| Q499/QNK131//J327/JNL095 | 45 | 13 | 46 | 31 |
| Q499/QL20//J327/JL01 | 45 | 43 | 46 | 44 |

Ví dụ 2. Sản xuất biến thể và biến thể chuỗi H của kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi L mới

Để cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi L mới đã thu được trong Ví dụ tham chiếu 1, QNK131 (SEQ ID NO: 13), chuỗi L mới cho kháng thể kháng FIX(a), và JNL095 (SEQ ID NO: 31), chuỗi L mới cho kháng thể kháng FX, được chọn, và các axit amin của chúng đã được làm đột biến hoàn toàn bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này như PCR. Các đột biến này được sàng lọc quy mô lớn về hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, và nhờ đó tạo ra các biến thể thay thế axit amin với hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được cải thiện.

Cùng thời gian đó, với việc sử dụng các chuỗi L mới đã thu được, các biến thể thay thế được tạo ra trong đó tất cả các CDR của Q499 và J327 đã được làm đột biến hoàn toàn bằng cách thay thế tất cả các axit amin ngoại trừ xystein. Các biến thể này được sàng lọc quy mô lớn về hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII để tìm các đột biến thế axit amin đã làm cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII.

Trong WO2012/067176, đã thành công thu được kháng thể đặc hiệu kép có hoạt

tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng nhưng có tác dụng ức chế phản ứng FIXa để hoạt hoá FX sử dụng FVIIIa làm đồng yếu tố không tăng cường. Quy trình tối ưu hoá cũng đã làm cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII mà không làm tăng cường tác dụng ức chế phản ứng FIXa để hoạt hoá FX sử dụng FVIIIa làm đồng yếu tố, nhưng mới đây được phát hiện là tác động đến sự hoạt hoá của FIX do FXIa (Fig. 3(1)). Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được thể hiện trên Fig. 3(1), Fig. 3(2), và Fig. 4 được đo bằng phương pháp được mô tả trong Ví dụ tham chiếu 1 ngoại trừ việc nồng độ của yếu tố X người được thay đổi thành 22,9 μg/mL, và nồng độ của phospholipit được thay đổi thành 6,0 μM. Ngoài ra, hoạt tính ức chế hoạt hoá của FIX đề cập đến độ hấp thụ giảm trong phản ứng hoạt hoá của FIX do FXIa như được xác định bằng cách sử dụng máy đo màu. Cụ thể, việc đo lường này được tiến hành bằng phương pháp dưới đây. 5 μL dung dịch kháng thể đã được pha loãng bằng TBSB được trộn với 5 μL 3U/mL yếu tố IX người (Christmassin M, Tổ chức sản phẩm máu Nhật Bản), và được ủ trong đĩa 384 giếng ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Phản ứng enzym trong hỗn hợp này được khơi mào bằng cách thêm 5 μL 90 ng/mL yếu tố XIa người (Enzyme Research Laboratories). Sau 60 phút, phản ứng được dừng bằng cách thêm 5 μL 0,5 M EDTA. Phản ứng tạo màu được khơi mào bằng cách thêm 10 μL dung dịch cơ chất tạo màu. Sau 60 phút phản ứng tạo màu, sự thay đổi về độ hấp thụ ở 405 nm được đo bằng cách sử dụng SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Dung môi của yếu tố IX người và yếu tố XIa người là TBSB chứa 6,0 μM dung dịch phospholipit (SYSMEX CO.) và 1,5 mM $CaCl_2$. Dung dịch cơ chất tạo màu, Spectrozyme FIX (Sekisui Diagnostics), được sử dụng cho thử nghiệm này sau khi được hoà tan trong nước tinh khiết để tạo ra dung dịch 6,7 mM và sau đó được trộn với etylen glycol với tỷ lệ 5:8. Kết quả là, các mẫu trên đây đã thể hiện sự giảm giá trị OD so với điều kiện không có kháng thể, thể hiện rằng sự tạo ra của FIXa đã giảm. Trong hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII và hoạt tính ức chế sự hoạt hoá

của FIX như được thể hiện trên Fig. 3, nồng độ cuối của kháng thể là 100 μg/mL. Nồng độ cuối của kháng thể đề cập đến nồng độ trong dung dịch hỗn hợp chứa dung dịch kháng thể, yếu tố IX người, và yếu tố XIa người. Trong phản ứng làm đông nội tại *in vivo*, FIXa được tạo ra thông qua sự hoạt hoá của FIX do FXIa. Do đó, việc làm ức chế quá trình hoạt hoá này gây ra sự tạo ra FIXa giảm, điều này có ảnh hưởng tiêu cực đến độ lớn làm tăng sự hoạt hoá FX qua trung gian FIXa với kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (Fig. 2). Do đó, để thu được kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII cao hơn, tốt hơn là hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX càng thấp càng tốt.

Theo đó, dựa trên các kết quả của việc sàng lọc quy mô lớn nêu trên về hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, các tác giả sáng chế đã tìm ra nhiều biến đổi axit amin làm tăng đáng kể hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII so với sự tăng hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX. Cụ thể, chúng là S30R, S31R, T53R (tất cả đều theo quy ước đánh số Kabat), v.v... Các biến đổi này được nhiều lần đưa vào QNK131 (SEQ ID NO: 13) để tạo ra QL20 (QAL201) (SEQ ID NO: 43). Ngoài ra, các biến thể thay thế axit amin được tạo ra bằng cách đưa toàn bộ nhiều đột biến thế axit amin CDR vào biến thể có QL20 làm chuỗi L cho kháng thể kháng FIX(a). Các biến thể này được sàng lọc quy mô lớn đo hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII và hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX. Kết quả là, các tổ hợp của các biến đổi được phát hiện là làm giảm hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX trong khi duy trì hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. Cụ thể, chúng là các tổ hợp của các gốc có tính bazơ và axit, như S30R/S31R/N32D, S30R/S31R/N32E, và Q27R/R93D (tất cả theo quy ước đánh số Kabat), trong chuỗi L của kháng thể kháng FIX(a).

Ngoài ra, các biến thể thay thế axit amin cũng được tạo ra bằng cách đưa toàn bộ các đột biến thế axit amin vào các FR, các vị trí không tiếp xúc kháng nguyên, và

được sàng lọc về hoạt tính. Kết quả là, đã tìm thấy nhiều biến đổi làm tăng thêm hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong khi duy trì hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX. Cụ thể, các biến thể thay thế axit amin trong đó Phe83 trong chuỗi L của kháng thể kháng FIX(a) được thay thế bằng gốc Met, gốc Ala, hoặc các gốc tương tự, hoặc Arg45 được thay thế bằng gốc Glu, đã thể hiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tăng.

Để tối ưu hoá tổ hợp của các biến đổi nêu trên và sự căn bằng ái lực liên kết kháng nguyên (kết hợp và phân ly) cho cả tay kháng FIX(a) và tay kháng FX, việc ghép cặp hoàn toàn cho các kháng thể kháng FIX(a) và kháng FX được tiến hành. Cụ thể, đối với kháng thể kháng FIX(a), chuỗi H được biến đổi bằng cách đưa vào Y100E, Y100eI, hoặc loại bỏ G100a, hoặc sự kết hợp của các biến đổi này, chuỗi L được biến đổi bằng cách đưa A55E, K92R, gắn xen Pro ở vị trí 95, hoặc L96G, hoặc sự kết hợp của các biến đổi này. Đối với kháng thể kháng FX, chuỗi H được biến đổi bằng cách đưa vào T28E/D31H hoặc D31N/Q, I51S, G56T/R, S57V, Y59S, E61R, E62K, D65N/Q, V67L, K73I, S82bE, E102V, hoặc sự kết hợp của các biến đổi này, và, đối với chuỗi L, JNL095 (SEQ ID NO: 31) được biến đổi bằng cách đưa E24T, N26E, H27Q, G29S, D30S/Q/E, K31R, H32E/Q, R50Q, D92A, S94D, S95D/A, A95aY, V96T, hoặc sự kết hợp của các biến đổi này (tất cả theo quy ước đánh số Kabat), nhờ đó tối ưu hoá ái lực liên kết kháng nguyên.

Kết quả là, các tác giả sáng chế tạo ra thành công các biến thể có hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX không tăng nhưng có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được cải thiện đáng kể (kháng thể đặc hiệu kép chứa tổ hợp vùng hằng định chuỗi H của trình tự bất kỳ nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 98 và vùng hằng định chuỗi L của trình tự bất kỳ nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 99 đến SEQ ID NO: 104, và tổ hợp của các vùng biến đổi được thể hiện trong Bảng 4)

so với ACE910 (Emicizumab) và so với các biến thể đã được chứng minh trong WO2012067176 là có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII cao hơn ACE910 (Emicizumab) (kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng hằng định chuỗi H nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 97, vùng hằng định chuỗi L nêu trong SEQ ID NO: 99, và tổ hợp của các vùng biến đổi được thể hiện trong Bảng 3) (Fig. 3(2)). Ngoài ra, như được thể hiện trên Fig. 4, các biến thể này được phát hiện là có hoạt tính đặc hiệu và hoạt tính tối đa được cải thiện đáng kể so với ACE910 (Emicizumab). Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được thể hiện trên Fig. 4 được đo bằng phương pháp được mô tả trong Ví dụ tham chiếu 1 ngoại trừ việc nồng độ của yếu tố X người được thay đổi thành 22,9 μg/mL, và nồng độ của phospholipit được thay đổi thành 6,0 μM.

Ngoài ra, để xác nhận hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII thúc đẩy sự sản sinh thrombin trong huyết tương, thử nghiệm sản sinh thrombin được tiến hành bằng phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Cụ thể, 8 μL kháng thể đặc hiệu kép đã được pha loãng bằng TBSB được thêm vào 72 μL huyết tương thiếu FVIII (George King), và được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút hoặc lâu hơn. Sau đó, thêm 20 μL chất phản ứng kích hoạt chứa 20 μM phospholipit và 5 ng/mL yếu tố XIa người (Enzyme Research Laboratories). Ngoài ra, 20 μL dung dịch hỗn hợp chứa chất đệm Fluo và cơ chất Fluo từ FluCa-Kit (Thrombinoscope) được thêm để bắt đầu phản ứng làm đông. Lượng thrombin sản sinh được đánh giá bằng cách sử dụng hệ thống đo huỳnh quang/phân tích sự sản sinh thrombin (Thrombinoscope). Kháng thể được thêm để tạo ra nồng độ cuối là 10 μg/mL. Nồng độ cuối của kháng thể đề cập đến nồng độ trong hỗn hợp chứa huyết tương thiếu FVIII và dung dịch kháng thể. Khi chiều cao đỉnh tại thời điểm thêm kháng thể được sử dụng làm chỉ số mức sản sinh thrombin, kết quả đã cho thấy rằng tất cả các kháng

thể đặc hiệu kép trong Bảng 5 đã thể hiện sự tăng thêm về mức sản sinh thrombin so với ACE910 (Emicizumab, Q499/L404//J327/L404). Ngoài ra, khi so sánh với FVIII đã được thêm làm đối chứng dương (Kogenate-FS BIO-SET; Bayer), một số các biến thể (QH01/QL21//JH01/JL01, QH02/QL22//JH01/JL01, QH03/QL23//JH02/JL02, QH03/QL24//JH02/JL02, QH02/QL22//JH04/JL04, QH04/QL26//JH02/JL02, QH04/QL26//JH05/JL05, QH06/QL30//JH07/JL07, QH04/QL31//JH08/JL08, QH06/QL32//JH07/JL07, QH06/QL32//JH09/JL09, QH06/QL30//JH10/JL10, QH07/QL33//JH11/JL11) đã thể hiện mức sản sinh thrombin cao hơn khi 40 U/dL FVIII được thêm, là mức trong người khoẻ mạnh (Fig. 5).

Bảng 3. Các tổ hợp của các vùng biến đổi trong ACE910 (Emicizumab) và các biến thể đã được chứng minh trong WO2012067176 là có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII cao hơn ACE910 (Emicizumab)

| Tên dòng vô tính | Kháng thể kháng FIX(a) | | Kháng thể kháng FX | |
|---|---|---|---|---|
| | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO |
| Q499/L377//J327/L377 | 45 | 52 | 46 | 52 |
| Q499/L248//J346/L248 | 45 | 53 | 50 | 53 |
| Q354/L324//J259/L324 | 49 | 54 | 51 | 54 |
| Q460/L334//J327/L334 | 48 | 55 | 46 | 55 |
| Q499/L334//J327/L334 | 45 | 55 | 46 | 55 |

Bảng 4. Các biến thể trong đó chỉ hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được cải thiện đáng kể

| Tên dòng vô tính | Kháng thể kháng FIX(a) | | Kháng thể kháng FX | |
|---|---|---|---|---|
| | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| QH01/QL21//JH01/JL01 | 56 | 61 | 73 | 84 |
| QH02/QL22//JH01/JL01 | 57 | 62 | 73 | 84 |
| QH03/QL23//JH02/JL02 | 58 | 63 | 74 | 85 |
| QH03/QL24//JH02/JL02 | 58 | 64 | 74 | 85 |
| QH02/QL22//JH03/JL03 | 57 | 62 | 75 | 86 |
| QH02/QL22//JH04/JL04 | 57 | 62 | 76 | 87 |
| QH02/QL22//JH02/JL02 | 57 | 62 | 74 | 85 |
| QH04/QL25//JH02/JL02 | 59 | 65 | 74 | 85 |
| QH04/QL26//JH02/JL02 | 59 | 66 | 74 | 85 |
| QH04/QL26//JH05/JL05 | 59 | 66 | 77 | 88 |
| QH04/QL28//JH05/JL05 | 59 | 67 | 77 | 88 |
| QH04/QL28//JH06/JL06 | 59 | 67 | 78 | 89 |
| QH04/QL29//JH05/JL05 | 59 | 68 | 77 | 88 |
| QH04/QL29//JH06/JL06 | 59 | 68 | 78 | 89 |
| QH06/QL30//JH07/JL07 | 60 | 69 | 79 | 90 |
| QH04/QL31//JH08/JL08 | 59 | 70 | 80 | 91 |
| QH06/QL32//JH07/JL07 | 60 | 71 | 79 | 90 |
| QH06/QL32//JH09/JL09 | 60 | 71 | 81 | 92 |
| QH06/QL30//JH10/JL10 | 60 | 69 | 82 | 93 |
| QH07/QL33//JH11/JL11 | 105 | 72 | 83 | 94 |

Ví dụ 3. Dược động học kháng thể (PK kháng thể; PK: pharmacokinetics) của kháng thể đặc hiệu kép được tạo ra

Để thuận tiện trong việc điều trị bằng thuốc cho bệnh nhân rối loạn đông máu A, tốt hơn là kháng thể được sử dụng có chu kỳ bán rã dài hơn để làm giảm tần suất sử dụng. Các phương pháp chính để cải thiện PK kháng thể bao gồm phương pháp làm tăng việc tái tuần hoàn vào máu thông qua FcRn, và phương pháp làm giảm sự hấp thụ tế bào thông qua sự liên kết không đặc hiệu (ADME and Translational Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Therapeutic Proteins (2015) trang 25-37).

Như được thể hiện trong Ví dụ 2, các tác giả sáng chế đã tạo ra thành công các kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được cải thiện đáng kể trong khi ngăn chặn sự tăng hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX của

chúng. Trong quá trình tạo ra các kháng thể này, các tác giả cũng nỗ lực cải thiện liên kết không đặc hiệu, mà có thể ảnh hưởng đến PK của các kháng thể.

Cụ thể, hệ thống thử nghiệm liên kết vào ma trận ngoại bào (ECM), mà được biết đến là hệ thống đánh giá liên kết không đặc hiệu *in vitro*, được sử dụng để đánh giá các kháng thể (patent Mỹ số 2014/0080153). Kết quả là, khả năng liên kết ECM của biến thể Q499/QL20//J327/JL01 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 45/43/46/44), mà đã thể hiện hoạt tính cao trong việc thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII trong Ví dụ 2, là rất cao so với ACE910 (Emicizumab). Tuy nhiên, đối với các biến thể trong đó chuỗi H của kháng thể kháng FIX(a) được biến đổi bởi G97D, Y100D, Y100E, và tương tự, và chuỗi L của kháng thể kháng FIX(a) được biến đổi bởi N32D, N32E, A55E, và tương tự (chứa tổ hợp của vùng hằng định Hch của trình tự bất kỳ nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 98 và vùng hằng định Lch của trình tự bất kỳ nêu trong các trình tự từ SEQ ID NO: 99 đến SEQ ID NO: 104, và tổ hợp của các vùng biến đổi được thể hiện trong Bảng 5), khả năng liên kết ECM đã được thành công làm giảm đáng kể (Fig. 6).

Ngoài ra, các biến thể được tạo ra bằng cách đưa biến đổi ACT-Fc (Mabs, (2017) quyển 9, số 5, 844-853), mà cải thiện việc tái tuần hoàn vào máu thông qua FcRn, vào các vùng hằng định kháng thể của các biến thể trên đây, là đối tượng cho thử nghiệm sử dụng trong tĩnh mạch cho chuột nhắt. Sau khi sử dụng kháng thể, máu được lấy mẫu theo thời gian và thu được huyết tương. Sau đó, nồng độ của kháng thể được sử dụng trong huyết tương được đo bằng phương pháp LC-MS/MS. Số liệu theo thời gian của nồng độ kháng thể trong huyết tương được phân tích bằng WinNonlin phiên bản 7.0 (Certara) để tính độ thanh thải của kháng thể (CL: antibody clearance). Kết quả là, khi so sánh với biến thể không có biến đổi ACT-Fc, nghĩa là QH01/QL21//JH01/JL01 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 56/61//73/84) hoặc

QH02/QL22//JH02/JL02 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 57/62//74/85), PK kháng thể (độ thanh thải: CL) được thành công cải thiện một cách đáng kể trong các biến thể có biến đổi ACT-Fc, cụ thể là, QH04/QL28//JH05/JL05 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 59/67//77/88), QH04/QL28//JH06/JL06 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 59/67//78/89), QH04/QL29//JH05/JL05 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 59/68//77/88), và QH04/QL29//JH06/JL06 (các vùng biến đổi: SEQ ID NO: 59/68//78/89) (Fig. 7).

Bảng 5. Các tổ hợp của các vùng biến đổi của kháng thể đặc hiệu kép thể hiện ái lực liên kết với ECM thấp

| Tên dòng vô tính | Kháng thể kháng FIX(a) | | Kháng thể kháng FX | |
|---|---|---|---|---|
| | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO |
| QH01/QL21//JH01/JL01 | 56 | 61 | 73 | 84 |
| QH02/QL22//JH02/JL02 | 57 | 62 | 74 | 85 |
| QH04/QL28//JH05/JL05 | 59 | 67 | 77 | 88 |
| QH04/QL28//JH06/JL06 | 59 | 67 | 78 | 89 |
| QH04/QL29//JH05/JL05 | 59 | 68 | 77 | 88 |
| QH04/QL29//JH06/JL06 | 59 | 68 | 78 | 89 |
| QH06/QL30//JH07/JL07 | 60 | 69 | 79 | 90 |
| QH04/QL31//JH08/JL08 | 59 | 70 | 80 | 91 |
| QH06/QL32//JH07/JL07 | 60 | 71 | 79 | 90 |
| QH06/QL32//JH09/JL09 | 60 | 71 | 81 | 92 |
| QH06/QL30//JH10/JL10 | 60 | 69 | 82 | 93 |
| QH07/QL33//JH11/JL11 | 105 | 72 | 83 | 94 |

Ví dụ 4. Sản xuất kháng thể đặc hiệu kép

Như được mô tả trên đây, các tác giả sáng chế đã đưa các biến đổi vào hai chuỗi nặng khác nhau (các chuỗi H) và hai chuỗi nhẹ khác nhau (các chuỗi L) của kháng thể

đặc hiệu kép để tạo ra kháng thể có hiệu quả và các đặc tính có lợi.

Khi kháng thể đặc hiệu kép được biểu hiện, hai chuỗi H khác nhau và hai chuỗi L khác nhau được biểu hiện. Do đó, có thể có 10 tổ hợp khác nhau. Vì chỉ một tổ hợp trong các tổ hợp này có tính đặc hiệu kép được quan tâm, nên việc thu được kháng thể đặc hiệu kép được quan tâm đòi hỏi phải tinh chế một kháng thể được quan tâm từ 10 kháng thể khác nhau, là rất kém hiệu quả và khó khăn. Các giải pháp cho vấn đề này là: phương pháp đã biết trong đó các đột biến thế axit amin được đưa vào miền CH3 của các chuỗi H trong IgG sao cho ưu tiên tiết ra IgG có hai chuỗi H khác nhau được kết hợp, và, để hiệu quả hơn thu được phân tử được quan tâm; các đột biến thế axit amin đã biết và các tổ hợp của chúng trong các vùng biến đổi và mặt phân cách miền CH1-CL để thúc đẩy sự kết hợp mong muốn của chuỗi H-chuỗi L (WO2013065708). Tuy nhiên, các cặp mới của các biến đổi cũng được kiểm tra.

Các kháng thể được sản xuất và các phương pháp sản xuất

Trong phần mô tả dưới đây, chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trên phía kháng thể kháng FIX(a) được ký hiệu lần lượt là Q và κ, và chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trên phía kháng thể kháng FX được lần lượt ký hiệu là J và λ.

Kháng thể đặc hiệu kép Q1014-G4T1k.LG.A5/AL869AE.F83M-kT0//J1494-G4T1h.LG.A5/YL681K27Q-lam1NL95 (các vùng biến đổi: Các SEQ ID NO: 106/108//109/111, các vùng hằng định: Các SEQ ID NO: 107/99//110/101) được sử dụng làm trình tự khuôn. Các tổ hợp của các biến đổi được thể hiện trong Bảng 6 đã được đưa vào kháng thể này để tạo ra các biến thể.

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá khả năng kiểm soát sự kết hợp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ. Tuy nhiên, khi một chuỗi nặng có vùng hằng định khiến cho sự

kết hợp tương đồng xảy ra dễ dàng, thì tất cả 9 loại phân tử bắt cặp không phù hợp được biểu hiện, không chỉ bao gồm các phân tử có hai chuỗi nặng khác nhau được kết hợp dị hợp như được thể hiện trên Fig. 8(8)-(10) mà còn bao gồm cả các phân tử được thể hiện trên Fig. 8(2)-(7). Điều này gây khó khăn trong việc phân tích và đánh giá phân tử được quan tâm (Fig. 8(1)). Do đó, để ngăn cản một chuỗi nặng tạo ra sự kết hợp tương đồng, các biến đổi "núm" và "lỗ" (các núm vào lỗ; KiH: Knobs into Hole) đã được lần lượt đưa vào các vùng hằng định của các chuỗi nặng (Q và J) (SEQ ID NO: 107 và SEQ ID NO: 110) sao cho các kháng thể có khả năng được biểu hiện dưới dạng các cặp không phù hợp có thể được làm giảm đi từ 9 loại xuống 3 loại (Fig. 8(8)-(10)), và tiến hành thử nghiệm.

Tại thời điểm chuyển nhiễm, bốn chuỗi này được biểu hiện với ba tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ = 1:3:1:1, 1:1:1:1, và 1:1:1:3), và được tinh chế bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Khi các chuỗi này được biểu hiện trong các điều kiện thừa chuỗi nhẹ, thì sự kiểm soát không hiệu quả giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ sẽ thúc đẩy sự hình thành của các cặp không phù hợp. Ngược lại, nếu kháng thể đặc hiệu kép được quan tâm được tạo thành với tỷ lệ cao trong tất cả ba điều kiện, thì cặp được đưa vào biến đổi này có thể được xem là có khả năng kiểm soát cao hơn.

Ngoài ra, các chất chuẩn tham chiếu với chuỗi nhẹ chung (Q/κ//J/κ và Q/λ//J/λ) được điều chế bằng cách biểu hiện ba chuỗi Q/κ/J hoặc Q/λ/J, là các chất chuẩn tham chiếu của các cặp không phù hợp được sử dụng trong phân tích CIEX (Cation Exchange Chromatography: sắc kỳ trao đổi cation).

Thử nghiệm và các phương pháp phân tích

Các kháng thể tạo ra được thử nghiệm bằng phương pháp CIEX sử dụng hệ

thống Alliance (Waters). Phương pháp gradien hai chất lỏng được tiến hành bằng cách sử dụng YMC-BioPro SP-F, 4,6 x 100 mm làm cột thử nghiệm, chất đệm gradien pH CX-1 A, pH 5,6 (Thermo) làm pha động A, và chất đệm gradien pH CX-1 B, pH 10,2 (Thermo) làm pha động B. Việc đo lường được tiến hành ở bước sóng 280 nm. Số liệu được phân tích bằng cách sử dụng Empower3 (Waters), và tính tỷ lệ của mỗi đỉnh được phát hiện. Trong các trường hợp chỉ quan sát được một đỉnh duy nhất khi bốn chuỗi được biểu hiện, đỉnh này được đặt là đỉnh chính, nghĩa là đỉnh của kháng thể đặc hiệu kép. Khi quan sát được nhiều đỉnh, thì đỉnh mà không chồng lấn với các đỉnh của các chất chuẩn tham chiếu của các cặp không phù hợp có chuỗi nhẹ chung được đặt là đỉnh chính.

Kết quả và thảo luận

Tỷ lệ đỉnh của kháng thể đặc hiệu kép được tính từ số liệu của thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 6, và từng sắc ký đồ được thể hiện trên Fig. 9.

Các cặp biến đổi mới số 14 (cặp của gốc axit amin ở vị trí 175 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và gốc axit amin ở vị trí 180 (quy ước đánh số Kabat) trong CL) và số 15 (cặp của gốc axit amin ở vị trí 175 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và gốc axit amin ở vị trí 131 (quy ước đánh số Kabat) trong CL), được phát hiện là đã biểu hiện khả năng kiểm soát so với các cặp biến đổi số 10 (cặp của gốc axit amin ở vị trí 147 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và gốc axit amin ở vị trí 180 (quy ước đánh số Kabat) trong CL) và số 11 (cặp của gốc axit amin ở vị trí 147 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và gốc axit amin ở vị trí 131 (quy ước đánh số Kabat) trong CL), trong số các biến đổi đã biết trong WO2013065708.

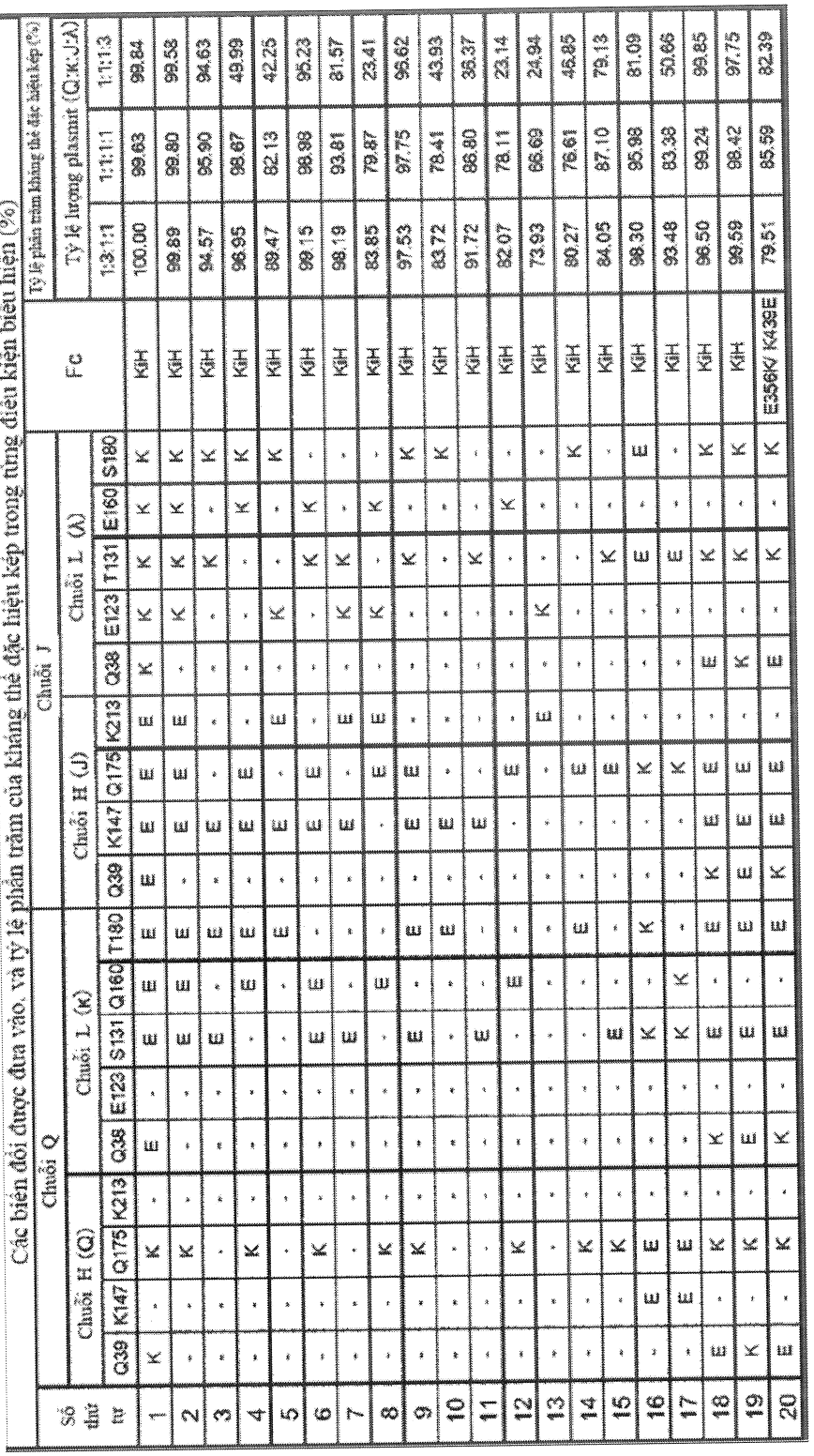
Ngoài ra, cặp biến đổi mới số 9 (cặp của các gốc axit amin ở vị trí 147 (quy ước đánh số EU) và vị trí 175 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và các gốc axit amin ở vị

trí 131 (quy ước đánh số Kabat) và vị trí 180 (quy ước đánh số Kabat) trong CL) được phát hiện là đã thể hiện khả năng kiểm soát cao như tổ hợp đã biết của cặp số 6 (cặp của các gốc axit amin ở vị trí 147 (quy ước đánh số EU) và vị trí 175 (quy ước đánh số EU) trong CH1 và các gốc axit amin ở vị trí 131 (quy ước đánh số Kabat) và vị trí 160 (quy ước đánh số Kabat) trong CL).

Ngoài ra, sự kết hợp cụ thể giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được biết là được thúc đẩy bởi cặp biến đổi của gốc axit amin ở vị trí 39 (quy ước đánh số Kabat) trong VH và gốc axit amin ở vị trí 38 (quy ước đánh số Kabat) trong VL (WO2013065708). Do đó, cặp biến đổi này đã được đưa vào cặp số 9 để tạo ra cặp số 18 và cặp số 19, và các cặp này được đánh giá. Kết quả là đã quan sát thấy tất cả các biến đổi đều đã tạo ra khả năng kiểm soát cao.

Ngoài ra, khi cặp biến đổi số 9, mới được phát hiện theo sáng chế, được áp dụng cho khuôn có cặp của các biến đổi (E356K-K439E) để thúc đẩy sự kết hợp chuỗi H khác với KiH (Q1014Q39E-G4T1A5LG409K.E356K/ AL869Q38KAE.F83M-kT0// J1494Q39K-G4T1A5LG409K.K439E/ YL681.K27Q.Q38E-lam1NL95 (các vùng biến đổi: Các SEQ ID NO: 112/113//114/115, các vùng hằng định: Các SEQ ID NO: 117/99//116/101)), khả năng kiểm soát cao cũng được quan sát thấy (cặp số 20: Q1014Q39E-G4T1th2A5LG409K.E356K/AL869Q38KAE.F83M-k0MTtl17E160Q//J 1494Q39K-G4T1th13A5LG409K.K439E/YL681.K27Q.Q38E-lam1p9 (các vùng biến đổi: Các SEQ ID NO: 112/113//114/115, các vùng hằng định: Các SEQ ID NO: 119/100//118/102).

Bảng 6



| Các biến đổi được đưa vào, và tỷ lệ phần trăm của kháng thể đặc hiệu kép trong từng điều kiện biểu hiện (%) | | |

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra các chuỗi nhẹ mới làm giảm khả năng phản ứng với kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) và thể hiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, và đã phát hiện các đột biến thế axit amin và các tổ hợp của chúng cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ làm cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của kháng thể đặc hiệu kép có các chuỗi nhẹ này trong khi không làm tăng hoạt tính ức chế sự hoạt hoá của FIX của chúng. Các đột biến thế axit amin này và các tổ hợp của chúng là có lợi để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII tốt hơn ACE910 (Emicizumab).

Ví dụ tham chiếu 1

Phương pháp có thể làm cải thiện hoạt tính của ACE910 để thay thế chức năng đồng yếu tố của FVIII để thu được chuỗi L mới có trình tự hoàn toàn khác với chuỗi L chung từ thư viện kháng thể người, đối với mỗi chuỗi H của kháng thể kháng FIX(a) và kháng thể kháng FX (Q499 và J327) .

Với việc tham khảo các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, cụ thể là, Biochemical and Biophysical Research Communications, (2000), 275, 2, 553-557 và các phương pháp tương tự, các tác giả sáng chế đã tạo ra một thư viện mới bằng cách thay thế chuỗi L của kháng thể idiotyp kháng ACE910 (Emicizumab) bằng thư viện chuỗi L của người, và đã tiến hành quét trong FIXa người được đánh dấu bằng biotin hoặc FIX người được đánh dấu bằng biotin để thu được các kháng thể có các chuỗi nhẹ mới có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII.

Kết quả là, đã tìm ra QNK131 (SEQ ID NO: 13), QNK284 (SEQ ID NO: 14), QNK315 (SEQ ID NO: 15), QNL182 (SEQ ID NO: 16), QNL492 (SEQ ID NO: 17), và QNL576 (SEQ ID NO: 18) là các vùng biến đổi chuỗi L cho kháng thể kháng

FIX(a) của người trong các kháng thể đặc hiệu kép có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, và đã tìm thấy JNK131 (SEQ ID NO: 19), JNK163 (SEQ ID NO: 20), JNK252 (SEQ ID NO: 21), JNK263(SEQ ID NO: 22), JNK339(SEQ ID NO: 23), (SEQ ID NO: 24), JNK351 (SEQ ID NO: 25), JNK360 (SEQ ID NO: 26), JNK378 (SEQ ID NO: 27), JNK382 (SEQ ID NO: 28), JNL036 (SEQ ID NO: 29), JNL072 (SEQ ID NO: 30), JNL095 (SEQ ID NO: 31), JNL176 (SEQ ID NO: 32), JNL208 (SEQ ID NO: 33), JNL224 (SEQ ID NO: 34), JNL260 (SEQ ID NO: 35), JNL056 (SEQ ID NO: 36), JNL059 (SEQ ID NO: 37), JNL226 (SEQ ID NO: 38), JNL250 (SEQ ID NO: 39), JNL263 (SEQ ID NO: 40), và JNL281 (SEQ ID NO: 41) là các vùng biến đổi chuỗi L cho kháng thể kháng FX của người.

Các kháng thể đặc hiệu kép khác nhau có các chuỗi L mới này được biểu hiện và được tinh chế bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Các kháng thể được tạo ra được thể hiện trong Bảng 7 (các tên dòng vô tính, các SEQ ID NO cho các vùng biến đổi chuỗi nặng, và các SEQ ID NO cho các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được thể hiện). Vùng biến đổi chuỗi L mới được sử dụng cho chỉ một trong số các chuỗi này. Đối với các chuỗi khác, L404 vùng biến đổi, chuỗi L chung của ACE910 (SEQ ID NO: 45), được sử dụng. Đối với chuỗi H, Q499 vùng biến đổi (SEQ ID NO: 45) và J327 vùng biến đổi (SEQ ID NO: 46) được sử dụng. Để cho thuận tiện, tên của các chuỗi L mới được sử dụng dưới dạng tên dòng vô tính. Đối với kháng thể kháng FIX(a), QC1 (SEQ ID NO: 95) và CL1 (SEQ ID NO: 99) được sử dụng lầm lượt làm các vùng hằng định chuỗi H và chuỗi L. Đối với kháng thể kháng FX, JC1 (SEQ ID NO: 97) và CL3 (SEQ ID NO: 101) được sử dụng lầm lượt làm các vùng hằng định chuỗi H và chuỗi L.

Mỗi kháng thể đặc hiệu kép đã được tinh chế được sử dụng để đánh giá hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII bằng phương pháp đã biết bởi người có hiểu

biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Cụ thể, việc đo lường này được tiến hành bằng phương pháp dưới đây. Tất cả các phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng. 5 µL dung dịch kháng thể đã được pha loãng bằng nước muối đệm Tris chứa 0,1% albumin huyết thanh bò (sau đây được viết tắt là TBSB) được trộn với 5 µL 150ng/mL yếu tố IXa người beta (Enzyme Research Laboratories), và được ủ trong đĩa 384 giếng ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Phản ứng enzym trong hỗn hợp này được khơi mào bằng cách thêm 5 µL yếu tố X người 24,7µg/mL (Enzyme Research Laboratories). Sau 4 phút, phản ứng được dừng bằng cách thêm 5 µL 0,5 M EDTA. Phản ứng tạo màu được khơi mào bằng cách thêm 5 µL dung dịch cơ chất tạo màu. Sau 30 phút phản ứng tạo màu, sự thay đổi về độ hấp thụ ở 405 nm được đo bằng cách sử dụng SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Dung môi của yếu tố IXa người beta và yếu tố X người là TBSB chứa 4,0 µM dung dịch phospholipit (SYSMEX CO.) và 1,5 mM $CaCl_2$. Dung dịch cơ chất tạo màu, S-2222 (SEKISUI MEDICAL), được hoà tan bằng nước tinh khiết để tạo ra nồng độ 1,47 mg/mL và được sử dụng cho thử nghiệm này. Các kết quả đo hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của từng kháng thể đặc hiệu kép đã được tinh chế được thể hiện trên Fig. 10. Nồng độ cuối của kháng thể được sử dụng trong phép đo hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được thể hiện trên Fig. 10 là 66,7 µg/mL đối với các kháng thể được tạo ra bằng chuỗi nhẹ mới kháng FIX(a), hoặc là 100 µg/mL đối với các kháng thể được tạo ra bằng chuỗi nhẹ mới kháng FX. Nồng độ cuối của kháng thể đề cập đến nồng độ trong hỗn hợp chứa dung dịch kháng thể, yếu tố IXa người beta, và yếu tố X người. Tất cả các kháng thể đặc hiệu kép được tạo ra bởi các chuỗi L mới bất kỳ được phát hiện là có hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII.

Bảng 7. Các kháng thể đặc hiệu kép có các chuỗi L mới được tạo ra

| Tên dòng vô tính | Vùng biến đổi chuỗi nặng SEQ ID NO | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ SEQ ID NO |
|---|---|---|
| QNK131 | 45 | 13 |
| QNK284 | 45 | 14 |
| QNK315 | 45 | 15 |
| QNL182 | 45 | 16 |
| QNL492 | 45 | 17 |
| QNL576 | 45 | 18 |
| JNK131 | 46 | 19 |
| JNK163 | 46 | 20 |
| JNK252 | 46 | 21 |
| JNK263 | 46 | 22 |
| JNK339 | 46 | 23 |
| JNK348 | 46 | 24 |
| JNK351 | 46 | 25 |
| JNK360 | 46 | 26 |
| JNK378 | 46 | 27 |
| JNK382 | 46 | 28 |
| JNL036 | 46 | 29 |
| JNL072 | 46 | 30 |
| JNL095 | 46 | 31 |
| JNL176 | 46 | 32 |
| JNL208 | 46 | 33 |
| JNL224 | 46 | 34 |
| JNL260 | 46 | 35 |
| JNL056 | 46 | 36 |
| JNL059 | 46 | 37 |
| JNL226 | 46 | 38 |
| JNL250 | 46 | 39 |
| JNL263 | 46 | 40 |
| JNL281 | 46 | 41 |

Ví dụ tham chiếu 2

Các biến thể thay thế được tạo ra trong đó tất cả các CDR chứa Q499 và J327,

các chuỗi H của ACE910, được làm đột biến hoàn toàn bằng cách thay thế tất cả các axit amin ngoại trừ xystein. Bằng cách sử dụng các biến thể này và các chuỗi L mới đã thu được trong Ví dụ tham chiếu 1, việc sàng lọc quy mô lớn về hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII được tiến hành để tìm các đột biến thế axit amin đã làm cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII. Ví dụ, các đột biến thế axit amin đã được đưa vào QNK131, chuỗi L mới cho kháng thể kháng FIX(a) (vùng biến đổi: SEQ ID NO: 13), để thu được QAL187 (vùng biến đổi: SEQ ID NO: 42) và QAL201 (vùng biến đổi: SEQ ID NO: 43). Tương tự, các đột biến thế axit amin đã được đưa vào JNL095, chuỗi L mới cho kháng thể kháng FX (vùng biến đổi: SEQ ID NO: 31), để thu được JYL280 (vùng biến đổi: SEQ ID NO: 44). Đối với kháng thể kháng FIX(a), QC1 (SEQ ID NO: 95) và CL1 (SEQ ID NO: 99) được sử dụng lầm lượt làm các vùng hằng định chuỗi H và chuỗi L. Đối với kháng thể kháng FX, JC1 (SEQ ID NO: 97) và CL3 (SEQ ID NO: 101) được sử dụng lầm lượt làm các vùng hằng định chuỗi H và chuỗi L.

Kết quả đã cho thấy rằng các đột biến thế axit amin được thể hiện trong Bảng 8 dưới đây có thể cải thiện hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của ACE910 (Emicizumab). Trong phép đo hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII, phương pháp được mô tả trong Ví dụ tham chiếu 1 được sử dụng cho các biến thể có chuỗi H được biến đổi cho kháng thể kháng FX. Đối với các biến thể có chuỗi H được biến đổi cho kháng thể kháng FIX(a), việc đo lường này được tiến hành bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong Ví dụ tham chiếu 1 ngoại trừ việc nồng độ của yếu tố IXa người beta được thay đổi thành 450 ng/mL. Bảng 8 thể hiện hoạt tính đặc hiệu của mỗi biến thể thay thế axit amin so với ACE910 (Emicizumab) (mỗi giá trị trong bảng). Trong Bảng 8, (-) thể hiện mức biểu hiện của kháng thể là thấp

Bảng 8. Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII của các kháng thể đặc hiệu

kép biến thể trong đó việc thay thế axit amin đã đưa vào Q499 và J327

Sự biến đổi chuỗi H của kháng thể kháng FIX(a)

| Vị trí | Đột biến | A | I | L | M | P | V | G | N | Q | S | T | D | E | H | K | R | F | W | Y |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 31 | Y | 0.4 | 0.0 | – | – | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | – | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 10.0 | ／ |
| 32 | Y | 0.6 | 1.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | – | 1.4 | 2.0 | 0.0 | 6.2 | 2.2 | 0.1 | 0.9 | 1.2 | 0.0 | 6.1 | 0.6 | ／ |
| 33 | D | – | – | – | 0.0 | – | 0.1 | – | 0.0 | – | – | 0.2 | ／ | 0.1 | – | – | – | – | – | – |
| 34 | I | 1.2 | ／ | 10.7 | 8.9 | 0.0 | 0.0 | 2.4 | – | 8.0 | 0.2 | 2.9 | 0.2 | 1.5 | 0.0 | 1.1 | 0.0 | 41.8 | 13.2 | 0.0 |
| 35 | Q | 0.4 | 4.6 | 76.2 | – | 39.0 | 45.7 | 73.9 | 0.0 | ／ | 22.8 | 56.0 | 0.0 | 0.1 | 0.1 | 1.4 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.1 |
| 50 | S | 5.4 | 1.0 | 0.9 | 4.1 | 0.0 | – | 2.8 | 6.0 | 0.0 | ／ | 0.0 | 3.3 | 0.0 | – | 0.2 | 0.0 | 1.2 | 3.3 | 1.3 |
| 51 | I | 0.0 | ／ | – | 0.0 | 0.0 | 2.3 | 0.0 | 0.0 | – | 0.3 | 0.0 | 0.0 | – | – | 0.0 | 0.0 | – | 0.0 | 0.0 |
| 52 | S | 1.1 | 4.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.8 | 1.0 | 9.9 | 8.1 | ／ | – | 13.1 | 0.0 | 34.0 | 0.1 | – | 26.0 | 8.2 | 2.0 |
| 52a | P | 0.4 | – | 0.7 | – | ／ | 0.1 | 4.9 | 0.0 | 1.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.3 | 0.0 | – | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 1.3 |
| 53 | S | 0.9 | 0.1 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.3 | 0.0 | 0.0 | ／ | 1.4 | 0.1 | 0.0 | 1.3 | 0.0 | 0.2 | 0.3 | 0.0 | 0.2 |
| 54 | G | 1.3 | 0.0 | 0.0 | – | 0.0 | 0.0 | ／ | 0.0 | 0.1 | 1.2 | – | 0.0 | 0.0 | – | 0.0 | – | – | 0.0 | 0.1 |
| 55 | Q | 0.0 | 0.0 | – | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 3.9 | 0.0 | ／ | – | 0.0 | – | 0.0 | 4.1 | – | 7.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 56 | S | – | 0.0 | 1.9 | 13.1 | 0.2 | 0.0 | 3.2 | 0.0 | – | ／ | 0.2 | 1.1 | 0.6 | 6.2 | 0.8 | 1.9 | 0.0 | – | 25.8 |
| 57 | T | 2.7 | 2.1 | 3.0 | 3.1 | 0.2 | 1.7 | – | 0.9 | 3.8 | 2.6 | ／ | 0.2 | 1.6 | 1.9 | 4.2 | 0.7 | 2.3 | 1.5 | 2.0 |
| 58 | Y | – | 1.7 | 1.9 | 0.4 | – | 1.1 | 0.2 | 5.0 | 0.6 | 0.6 | 14.7 | 3.8 | – | 3.8 | 3.6 | 0.2 | 4.5 | 1.5 | ／ |
| 59 | Y | 0.0 | 0.5 | – | 1.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.1 | – | – | – | 0.0 | 1.5 | – | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.4 | ／ |
| 60 | R | 3.7 | 4.1 | 3.4 | 3.9 | 1.2 | 3.4 | 2.8 | – | 4.1 | 3.5 | 2.3 | – | – | 4.1 | 3.7 | ／ | 4.0 | 0.0 | – |
| 61 | R | 1.8 | 1.5 | 1.5 | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 2.0 | 2.1 | 2.2 | 0.0 | 1.9 | 1.1 | 0.7 | 3.7 | – | ／ | 1.7 | 1.1 | – |
| 62 | E | 3.3 | 1.1 | 1.8 | 1.3 | 3.4 | 1.4 | 4.2 | 4.8 | 4.4 | 5.2 | 4.5 | 6.0 | ／ | 3.0 | 3.0 | 0.0 | – | 1.6 | 0.0 |
| 63 | V | 2.9 | 2.5 | 3.1 | 1.3 | 1.0 | ／ | 0.1 | 0.5 | 0.1 | 0.4 | 1.1 | 0.5 | 0.1 | 3.5 | 0.1 | 0.0 | 4.0 | 0.5 | 6.6 |
| 64 | K | 1.2 | 1.5 | 1.3 | 1.2 | 0.0 | 1.1 | 1.1 | 1.0 | 1.2 | 1.3 | 1.1 | 0.4 | 0.4 | 1.2 | ／ | 4.8 | 0.0 | 0.8 | 1.1 |
| 65 | G | 2.1 | 4.4 | 3.0 | 2.9 | 0.2 | 1.2 | ／ | 3.5 | 20.4 | 2.3 | 3.1 | 3.8 | 2.5 | 4.1 | 1.4 | 2.7 | 2.5 | 3.5 | 3.3 |
| 95 | R | 0.0 | 0.4 | 0.0 | – | 0.1 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 1.1 | 0.0 | 0.1 | – | – | – | 1.2 | ／ | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 96 | T | 5.5 | 0.5 | 0.4 | 1.6 | 0.1 | 1.3 | – | 3.3 | 15.0 | 15.0 | ／ | 4.2 | 1.5 | 1.6 | 0.5 | 0.3 | 1.3 | 2.1 | 2.6 |
| 97 | G | – | 0.1 | 0.0 | 0.3 | 3.1 | 0.4 | ／ | 1.4 | 0.7 | 2.1 | 0.4 | 11.6 | 1.8 | 1.2 | 0.2 | 0.1 | 1.0 | 1.9 | 1.1 |
| 98 | R | 4.5 | 9.0 | 9.5 | 5.8 | 2.2 | 4.1 | 5.7 | 7.7 | 7.6 | 5.7 | 8.1 | 3.7 | 4.1 | 5.8 | 4.0 | ／ | 5.8 | 3.9 | 8.2 |
| 99 | E | 3.4 | 10.4 | 7.0 | 5.5 | 5.8 | 7.0 | 1.7 | 3.0 | 4.3 | 4.0 | 4.8 | 3.4 | ／ | 4.2 | 2.2 | 2.0 | 3.3 | 1.8 | 3.6 |
| 100 | Y | 1.6 | 5.0 | 1.6 | 3.3 | 2.7 | 3.4 | 1.2 | 3.2 | 1.5 | 1.3 | 1.6 | 3.0 | 1.5 | 3.2 | 1.9 | 2.2 | 2.1 | 3.6 | ／ |
| 100a | G | 3.4 | 1.1 | 5.1 | 5.8 | 0.4 | 0.6 | ／ | 2.7 | – | 1.7 | 1.0 | 2.6 | 0.9 | 2.5 | 6.5 | 7.1 | 2.1 | 2.0 | 2.7 |
| 100b | G | 5.3 | 1.0 | 0.4 | 0.4 | 0.8 | 0.9 | ／ | 1.1 | 1.0 | 2.3 | 1.1 | 1.4 | 1.2 | 0.6 | – | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.2 |
| 100c | G | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | ／ | 1.1 | 0.0 | 0.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | – | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 100d | W | 0.0 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 1.4 | 0.0 | 0.0 | 10.3 | ／ | 3.6 |
| 100e | Y | 3.1 | 4.5 | 3.7 | 3.0 | 0.4 | 4.9 | 1.0 | 5.1 | 3.2 | 3.8 | 5.2 | 1.7 | 1.5 | 9.4 | 1.1 | – | 3.1 | 1.5 | ／ |
| 100f | F | 11.7 | 24.9 | 7.6 | 8.6 | 7.8 | 23.2 | – | 18.6 | 6.3 | 8.0 | 11.3 | 1.3 | 2.0 | 0.7 | 0.0 | 0.6 | ／ | 0.1 | 0.7 |
| 101 | D | 3.2 | 4.1 | 2.1 | 1.8 | 8.6 | 3.9 | 2.3 | 3.2 | 2.6 | 3.1 | 2.9 | ／ | 2.7 | 2.4 | 2.3 | 2.5 | 2.1 | 3.0 | 2.5 |
| 102 | Y | 4.4 | 4.1 | 4.6 | 4.1 | 4.6 | 5.8 | 6.3 | 4.3 | 4.3 | 2.6 | 5.9 | 8.6 | 6.5 | 4.6 | 3.6 | 3.2 | 3.9 | 3.5 | ／ |

Sự biến đổi chuỗi H của kháng thể kháng FX

| Vị trí | Đột biến | A | I | L | M | P | V | G | N | Q | S | T | D | E | H | K | R | F | W | Y |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 31 | D | – | 8.9 | 13.0 | 14.2 | – | 11.0 | 15.5 | 14.7 | 14.6 | 15.3 | 12.5 | ／ | 14.0 | 17.4 | 12.6 | 11.2 | 13.7 | 13.3 | 13.6 |
| 32 | N | 10.7 | 0.4 | 0.8 | 5.6 | 0.3 | 1.9 | 3.3 | ／ | 4.1 | 12.5 | 4.2 | 0.2 | 0.8 | 5.2 | 3.1 | 3.5 | 4.4 | 1.5 | 4.3 |
| 33 | N | 0.4 | 1.8 | 2.8 | 1.7 | 0.0 | 1.2 | 1.2 | ／ | 1.8 | 3.4 | 0.1 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | 0.1 | 0.0 | 0.2 | 0.0 |
| 34 | M | 2.6 | 11.0 | 12.1 | ／ | – | 12.4 | – | – | – | – | 1.6 | – | – | 7.8 | – | – | 7.4 | 1.3 | 3.4 |
| 35 | D | 3.4 | 4.2 | 3.1 | 6.6 | – | 5.0 | 3.5 | 13.1 | 11.4 | 5.0 | 0.3 | ／ | 11.4 | 6.0 | – | – | 3.5 | 4.8 | 2.3 |
| 50 | D | 3.1 | 0.3 | 0.2 | 0.5 | – | 2.4 | 1.2 | 4.1 | 1.8 | 3.9 | 1.7 | ／ | 1.3 | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | 0.1 |
| 51 | I | 10.2 | ／ | 10.3 | 10.2 | – | 12.8 | 1.6 | – | 9.5 | 11.5 | 12.7 | 0.6 | 0.7 | – | 3.1 | 0.1 | 4.8 | 0.7 | 4.7 |
| 52 | N | 1.8 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.6 | ／ | 0.7 | 2.9 | 0.0 | 0.1 | 0.5 | 3.5 | 0.0 | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.0 |
| 52a | T | 6.0 | 7.7 | 4.2 | 3.9 | 7.2 | 9.0 | 3.2 | – | 0.9 | 11.9 | ／ | 0.1 | 0.0 | 1.0 | 0.3 | 0.1 | 1.5 | 4.0 | 0.7 |
| 53 | R | 3.7 | 7.4 | 5.0 | 5.3 | 3.0 | 6.9 | 3.9 | 12.4 | 6.0 | 3.8 | 0.3 | 1.4 | 1.9 | 7.2 | 9.8 | ／ | 7.4 | 8.9 | 5.8 |
| 54 | S | 12.8 | 4.3 | 3.6 | 6.2 | 0.1 | 8.0 | 10.8 | 5.3 | 5.4 | ／ | 6.3 | 2.7 | 1.1 | 5.8 | 3.1 | 4.7 | 10.1 | 16.0 | 12.2 |
| 55 | G | 11.0 | 6.2 | 8.3 | 8.7 | 3.1 | 8.0 | ／ | 2.7 | 11.0 | 12.1 | 9.2 | 4.1 | 6.8 | 10.4 | 7.0 | 7.9 | 7.6 | 7.3 | 8.7 |
| 56 | G | 8.3 | 11.2 | 11.4 | 11.6 | – | 8.8 | ／ | 11.3 | 13.3 | 13.3 | 13.8 | 4.6 | 3.2 | 8.4 | 10.2 | 12.3 | 10.4 | 13.7 | 10.3 |
| 57 | S | 11.9 | 10.9 | 6.5 | 12.2 | 12.1 | 12.9 | 13.7 | 10.6 | 12.9 | ／ | 10.9 | 6.9 | 0.7 | 2.5 | 0.1 | 0.3 | 0.8 | 3.0 | 0.1 |
| 58 | I | 5.8 | ／ | 7.7 | 3.9 | – | 3.7 | 1.3 | 6.3 | 7.2 | 2.7 | 11.3 | 0.1 | 2.7 | 3.3 | 7.5 | 4.2 | 4.8 | 2.6 | 5.5 |
| 59 | Y | 3.2 | 11.8 | 5.9 | 3.7 | 0.4 | 1.3 | 1.7 | 5.9 | 7.8 | 7.2 | 9.4 | 6.7 | 6.0 | 12.7 | 4.0 | 3.2 | 4.9 | 6.6 | ／ |
| 60 | N | 11.0 | 9.0 | 10.4 | 10.2 | 5.0 | 9.6 | 5.2 | ／ | 6.1 | 2.2 | 1.1 | 10.7 | 4.4 | 2.2 | 4.6 | 10.1 | 9.8 | 10.0 | 11.7 |
| 61 | E | 17.6 | 12.5 | 10.8 | 6.4 | 6.8 | 2.3 | 7.5 | 2.6 | 11.1 | 12.0 | 7.9 | 3.6 | ／ | 5.3 | 9.6 | 6.9 | 8.1 | 7.7 | 6.9 |
| 62 | E | 9.5 | 9.9 | 10.6 | 11.1 | 9.3 | 11.6 | 13.6 | 13.0 | 15.2 | 4.2 | 2.9 | – | ／ | 9.3 | 9.8 | 12.6 | 10.0 | 13.7 | 10.9 |
| 63 | F | 12.5 | 11.3 | 6.3 | 12.1 | – | 12.2 | 13.1 | 12.6 | 10.2 | 12.3 | – | 11.3 | 6.3 | 15.9 | 7.8 | 6.2 | ／ | 16.7 | 16.3 |
| 64 | Q | 16.2 | 14.7 | 11.8 | 16.0 | 9.7 | 14.8 | 15.0 | 15.0 | ／ | 15.8 | 15.3 | 14.4 | 16.2 | 13.7 | 14.2 | 12.4 | 15.7 | 13.9 | 15.5 |
| 65 | D | 14.3 | – | 12.6 | 15.5 | 16.1 | – | 11.5 | 15.0 | 15.4 | 15.6 | 14.9 | ／ | 14.2 | 14.8 | 12.9 | 14.5 | 14.9 | 12.4 | 14.8 |
| 95 | R | 0.2 | 0.6 | 1.6 | 1.0 | 0.7 | 1.0 | 0.1 | 0.0 | 0.8 | 0.1 | 0.2 | 0.0 | – | 1.2 | 5.7 | ／ | 0.0 | 0.4 | 0.3 |
| 96 | K | 3.0 | 2.0 | 1.8 | 4.3 | 0.0 | 3.6 | 1.1 | 1.0 | 2.3 | 1.2 | 1.7 | 0.0 | 1.0 | 1.7 | ／ | 15.7 | 1.9 | 1.9 | 1.4 |
| 97 | S | 14.8 | 2.2 | 1.6 | 5.2 | 1.4 | 3.7 | 10.2 | 5.4 | 6.5 | ／ | 7.6 | 2.9 | 3.9 | 7.2 | 3.5 | – | 3.2 | 1.5 | 3.2 |
| 98 | Y | 2.2 | 1.1 | 1.9 | 7.3 | 0.1 | 1.4 | 1.4 | 1.3 | 1.9 | 1.9 | 1.0 | 0.2 | 0.2 | 8.8 | 1.5 | 7.9 | 6.9 | 4.2 | ／ |
| 99 | G | 4.6 | – | – | 5.2 | 0.0 | 0.5 | ／ | 7.6 | 7.6 | 6.8 | 1.7 | 8.8 | 3.7 | 6.1 | 5.7 | 7.2 | 6.3 | 3.7 | 4.0 |
| 100 | Y | 12.6 | 8.3 | 14.5 | 10.8 | 6.2 | 10.9 | 9.3 | 12.6 | 12.9 | 12.0 | 11.5 | 10.9 | 7.8 | 12.0 | 12.8 | 12.2 | 13.9 | 6.5 | ／ |
| 100a | Y | 5.9 | 2.7 | 5.7 | 3.5 | 1.3 | 7.0 | 2.8 | 8.9 | 3.9 | 7.1 | 7.7 | 3.3 | 3.9 | 14.7 | 2.4 | 6.7 | 13.4 | 11.8 | ／ |
| 100b | L | 4.1 | 10.6 | ／ | 12.9 | 0.6 | 7.2 | 0.0 | 4.8 | 3.9 | 1.9 | 3.1 | 1.5 | 0.3 | 8.0 | 0.8 | 0.2 | 14.8 | 6.2 | 11.2 |
| 101 | D | 6.5 | 5.2 | 5.4 | 5.3 | 6.7 | 6.8 | 6.7 | 6.7 | 7.0 | 6.8 | 6.2 | ／ | 7.0 | 3.4 | 4.4 | 4.1 | – | – | – |
| 102 | E | 12.1 | 11.7 | 10.8 | 11.7 | 6.9 | 13.3 | 12.6 | 11.2 | 11.3 | 9.4 | 10.2 | 12.5 | ／ | 10.3 | 10.9 | 10.5 | 10.5 | 12.7 | 12.9 |

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và chuỗi nặng kháng thể thứ hai và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X, trong đó kháng thể đặc hiệu kép này là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(b) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 84;

(c) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(d) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64, vùng biến đổi chuỗi nặng

kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(e) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86;

(f) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 76, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 87;

(g) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(h) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 65, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(i) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể

thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 85;

(j) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 66, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(k) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(l) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 67, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(m) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88;

(n) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất

chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 78, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89;

(o) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(p) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 80, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91;

(q) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 79, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90;

(r) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92;

(s) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93;

(t) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 105, vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 72, vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94.

2. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất bao gồm các vùng hằng định chứa các trình tự axit amin nêu trong (1) dưới đây, và chuỗi nặng kháng thể thứ hai và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai bao gồm các vùng hằng định chứa các trình tự axit amin nêu trong (2) dưới đây:

(1) SEQ ID NO: 119 làm vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 100 làm vùng hằng định chuỗi nhẹ

(2) SEQ ID NO: 118 làm vùng hằng định chuỗi nặng và SEQ ID NO: 102 làm vùng hằng định chuỗi nhẹ.

3. Kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi nặng kháng thể thứ nhất và chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất liên kết với yếu tố đông máu IX và/hoặc yếu tố đông máu IX đã được hoạt hoá, và chuỗi nặng kháng thể thứ hai và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai liên kết với yếu tố đông máu X, trong đó kháng thể đặc hiệu kép này là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể từ (a) đến (t) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 120, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149;

(b) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149;

(c) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(d) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(e) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 151;

(f) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 152;

(g) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(h) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(i) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

(j) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(k) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(l) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154;

(m) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153;

(n) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154;

(o) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155;

(p) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 135, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156;

(q) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155;

(r) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157;

(s) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158;

(t) kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159.

4. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 120, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149.

5. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149.

6. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 128, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150.

7. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 122, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150.

8. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 151.

9. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 152;

10. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 121, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 127, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150.

11. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150.

12. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139, và chuỗi nhẹ kháng thể

thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150.

13. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 131, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153.

14. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153.

15. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 132, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154.

16. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153.

17. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 133, chuỗi nặng kháng

thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154.

18. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155.

19. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 123, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 135, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156.

20. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155.

21. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 136, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157.

22. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124, chuỗi nhẹ

kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158.

23. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125, chuỗi nhẹ kháng thể thứ nhất chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 137, chuỗi nặng kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148, và chuỗi nhẹ kháng thể thứ hai chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159.

24. Axit nucleic đã được phân lập mã hoá kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 23.

25. Tế bào chủ chứa axit nucleic theo điểm 24.

26. Dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 23, và chất mang dược dụng.

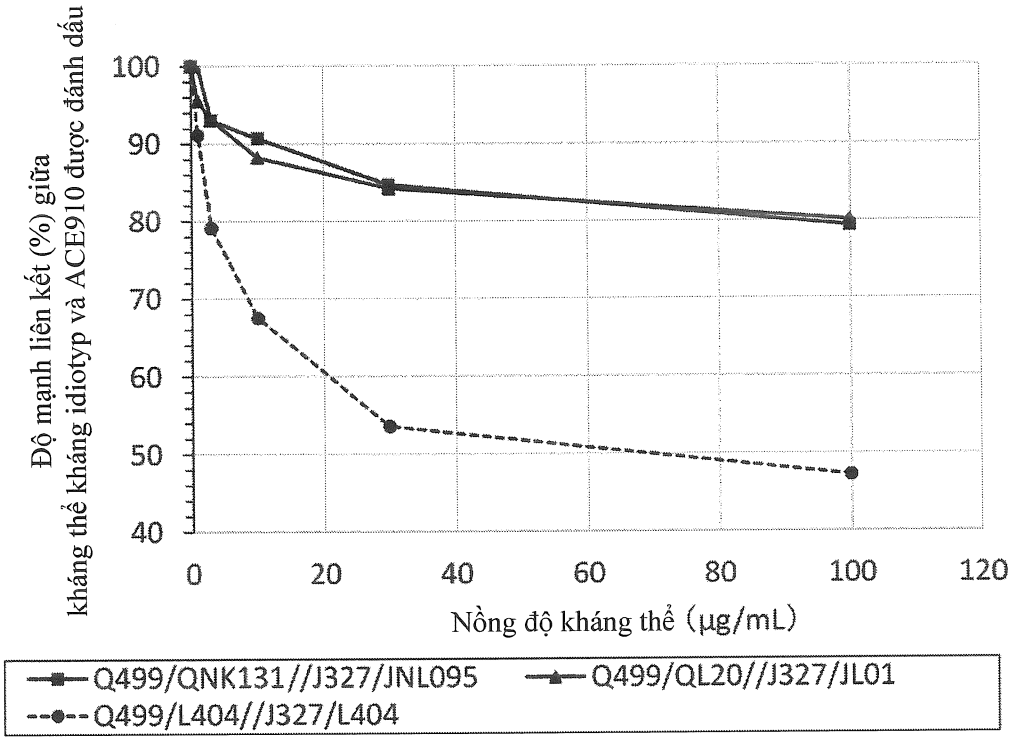

Độ mạnh liên kết (%) giữa
kháng thể kháng idiotyp và ACE910 được đánh dấu
100
90
80
70
60
50
40
0
20
40
60
80
100
120
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
Q499/QNK131//J327/JNL095
Q499/QL20//J327/JL01
Q499/L404//J327/L404

FIG. 1

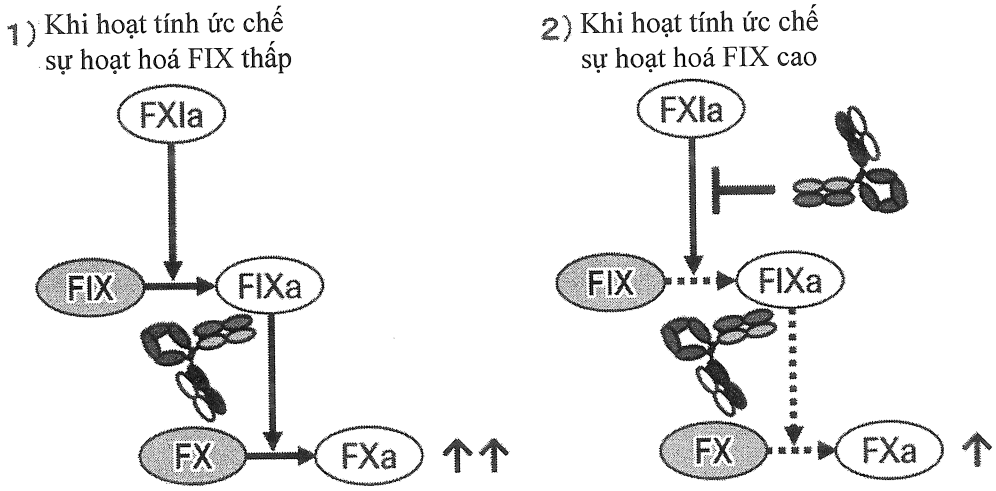

1) Khi hoạt tính ức chế
sự hoạt hoá FIX thấp
FXIa
FIX
FIXa
FX
FXa
↑↑
2) Khi hoạt tính ức chế
sự hoạt hoá FIX cao
FXIa
FIX
FIXa
FX
FXa
↑

FIG. 2

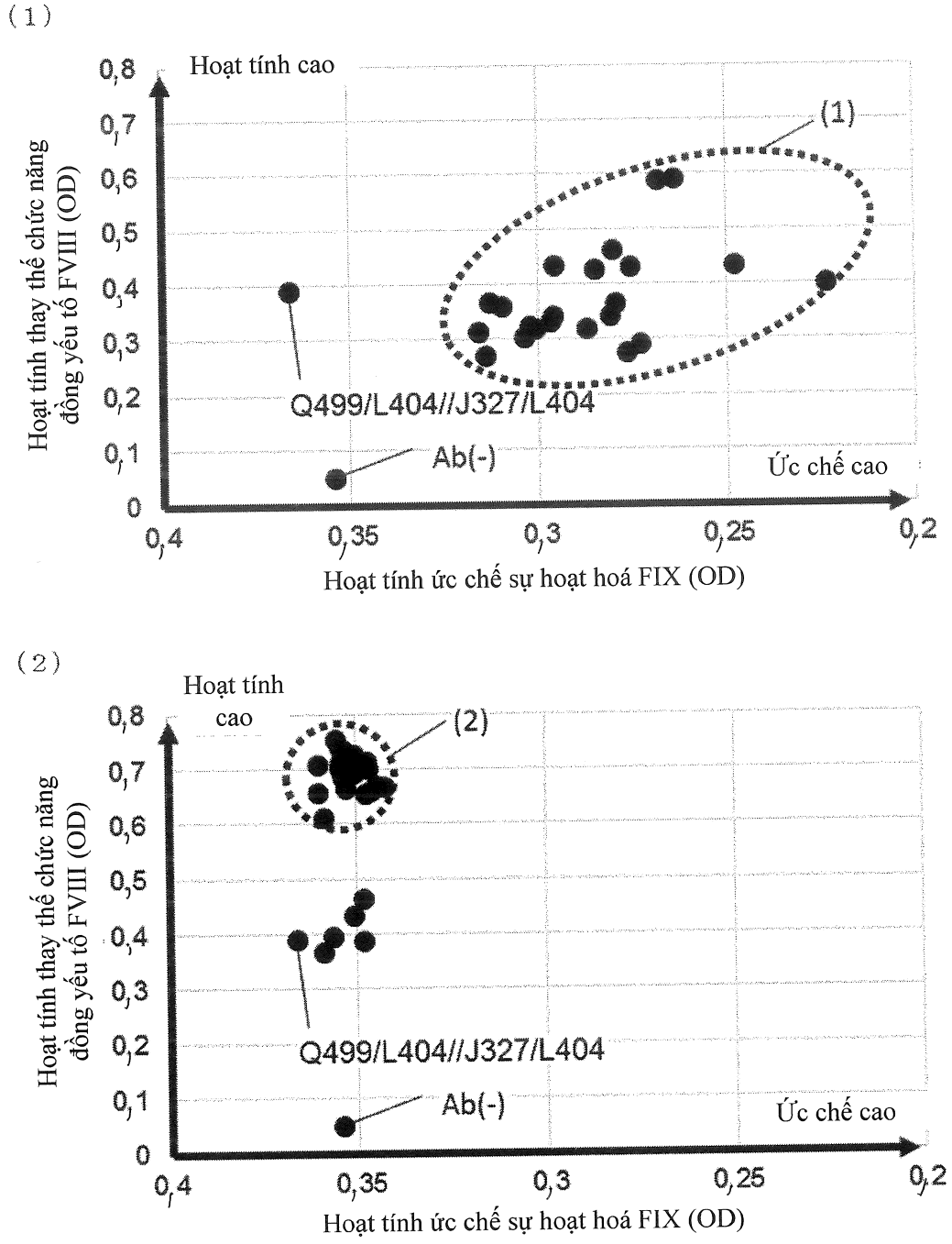

(1)
Hoạt tính cao
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)
(1)
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)
Ức chế cao
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
Hoạt tính ức chế sự hoạt hoá FIX (OD)
(2)
Hoạt tính cao
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)
(2)
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)
Ức chế cao
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
Hoạt tính ức chế sự hoạt hoá FIX (OD)

FIG. 3

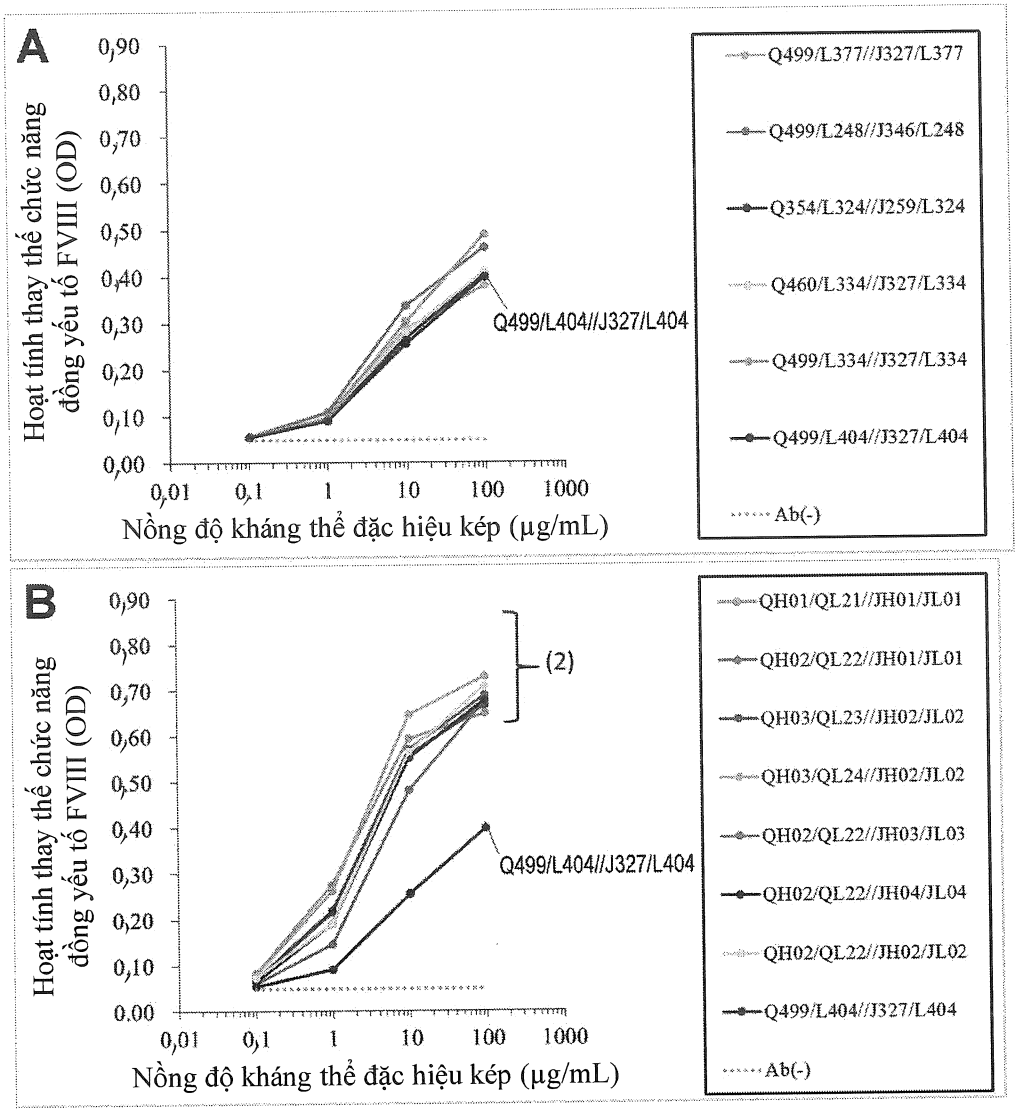

A
Hoạt tính thay thế chức năng đông yếu tố FVIII (OD)
0,90
0,80
0,70
0,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0,00
0,01
0,1
1
10
100
1000
Nồng độ kháng thể đặc hiệu kép (µg/mL)
Q499/L404//J327/L404
Q499/L377//J327/L377
Q499/L248//J346/L248
Q354/L324//J259/L324
Q460/L334//J327/L334
Q499/L334//J327/L334
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)
B
Hoạt tính thay thế chức năng đông yếu tố FVIII (OD)
0,90
0,80
0,70
0,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0.00
0,01
0,1
1
10
100
1000
Nồng độ kháng thể đặc hiệu kép (µg/mL)
(2)
Q499/L404//J327/L404
QH01/QL21//JH01/JL01
QH02/QL22//JH01/JL01
QH03/QL23//JH02/JL02
QH03/QL24//JH02/JL02
QH02/QL22//JH03/JL03
QH02/QL22//JH04/JL04
QH02/QL22//JH02/JL02
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)

FIG. 4-1

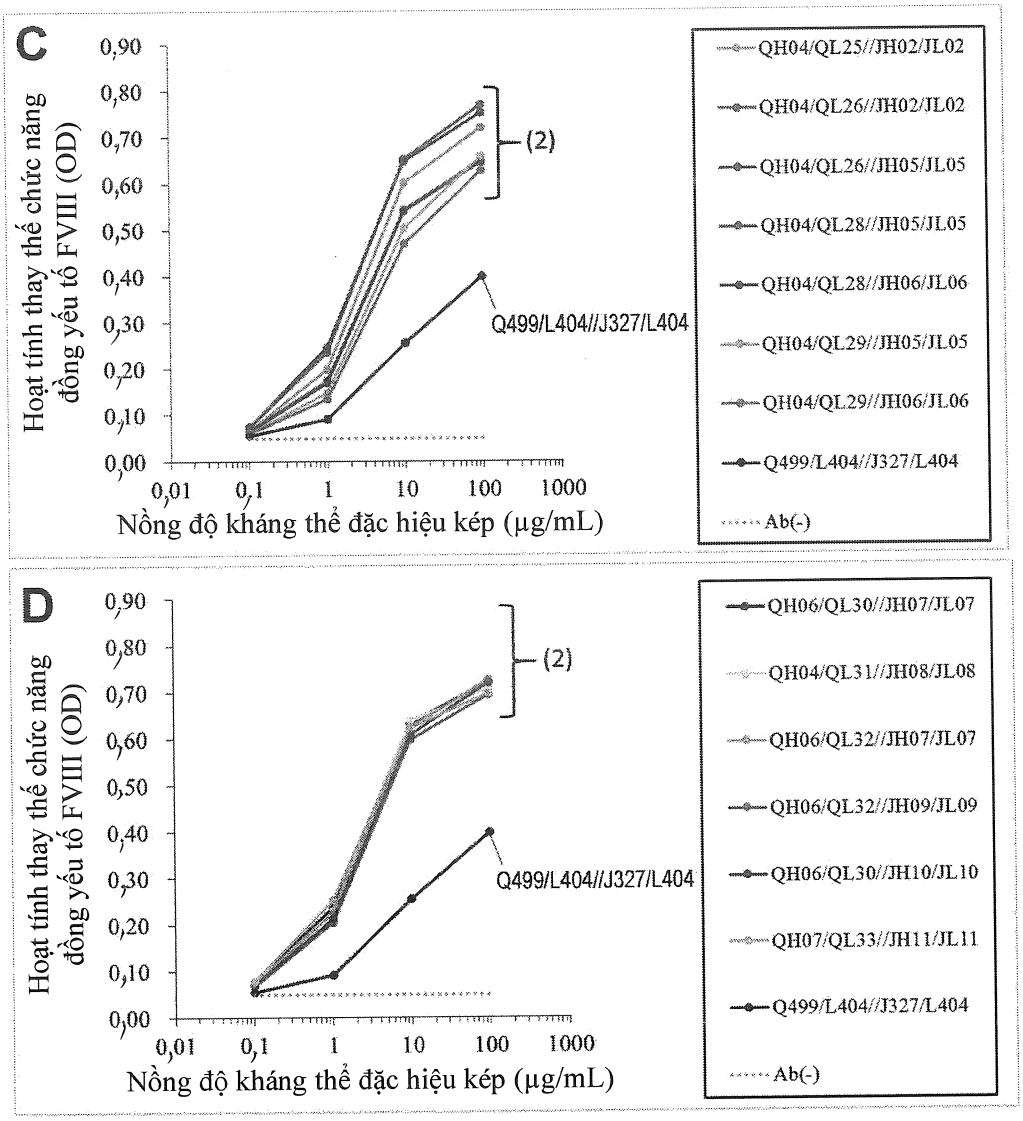

C
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)
0,90
0,80
0,70
0,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0,00
0,01
0,1
1
10
100
1000
Nồng độ kháng thể đặc hiệu kép (µg/mL)
(2)
Q499/L404//J327/L404
QH04/QL25//JH02/JL02
QH04/QL26//JH02/JL02
QH04/QL26//JH05/JL05
QH04/QL28//JH05/JL05
QH04/QL28//JH06/JL06
QH04/QL29//JH05/JL05
QH04/QL29//JH06/JL06
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)
D
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)
0,90
0,80
0,70
0,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0,00
0,01
0,1
1
10
100
1000
Nồng độ kháng thể đặc hiệu kép (µg/mL)
(2)
Q499/L404//J327/L404
QH06/QL30//JH07/JL07
QH04/QL31//JH08/JL08
QH06/QL32//JH07/JL07
QH06/QL32//JH09/JL09
QH06/QL30//JH10/JL10
QH07/QL33//JH11/JL11
Q499/L404//J327/L404
Ab(-)

FIG. 4-2

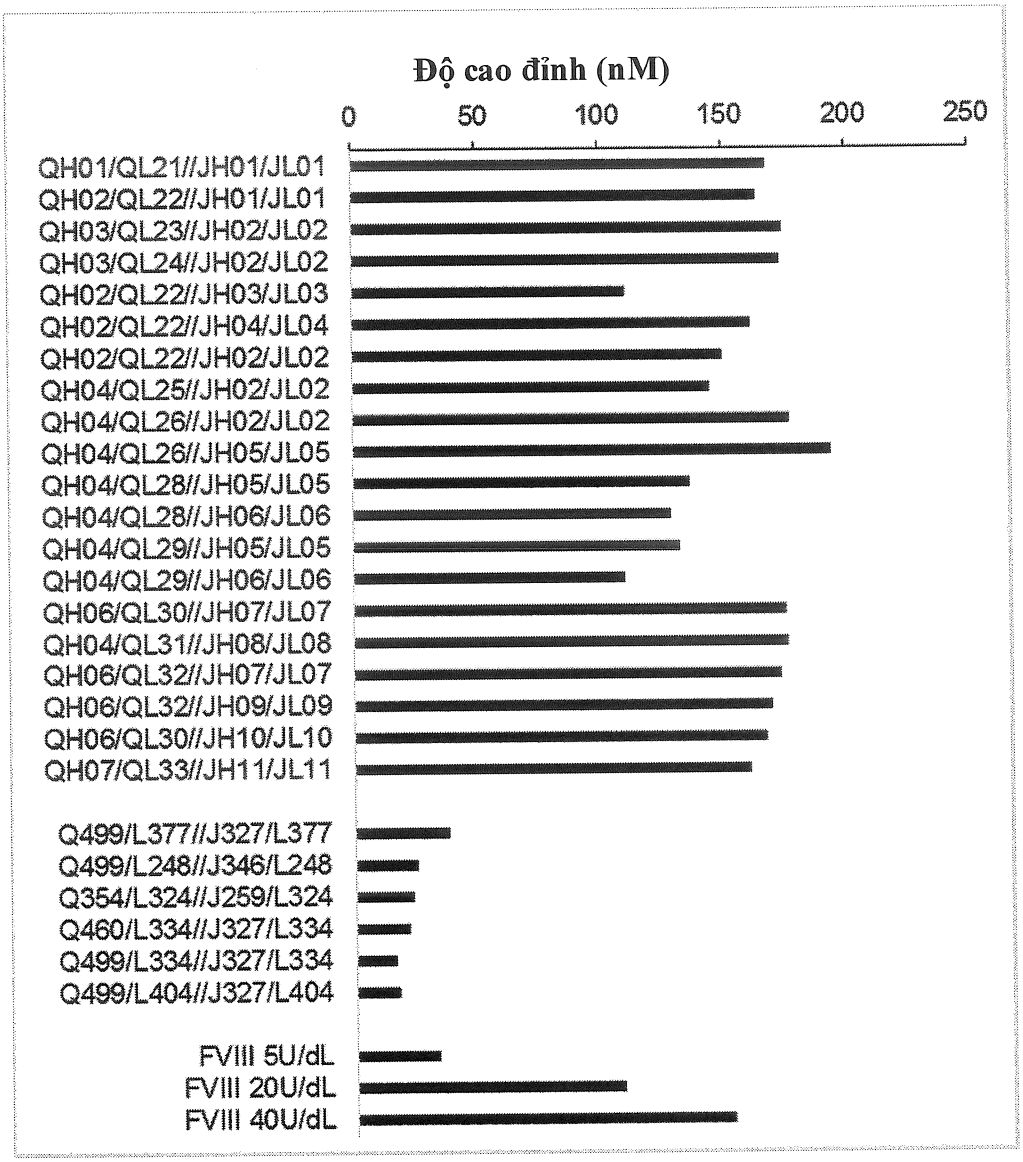

Độ cao đỉnh (nM)
0
50
100
150
200
250
QH01/QL21//JH01/JL01
QH02/QL22//JH01/JL01
QH03/QL23//JH02/JL02
QH03/QL24//JH02/JL02
QH02/QL22//JH03/JL03
QH02/QL22//JH04/JL04
QH02/QL22//JH02/JL02
QH04/QL25//JH02/JL02
QH04/QL26//JH02/JL02
QH04/QL26//JH05/JL05
QH04/QL28//JH05/JL05
QH04/QL28//JH06/JL06
QH04/QL29//JH05/JL05
QH04/QL29//JH06/JL06
QH06/QL30//JH07/JL07
QH04/QL31//JH08/JL08
QH06/QL32//JH07/JL07
QH06/QL32//JH09/JL09
QH06/QL30//JH10/JL10
QH07/QL33//JH11/JL11
Q499/L377//J327/L377
Q499/L248//J346/L248
Q354/L324//J259/L324
Q460/L334//J327/L334
Q499/L334//J327/L334
Q499/L404//J327/L404
FVIII 5U/dL
FVIII 20U/dL
FVIII 40U/dL

FIG. 5

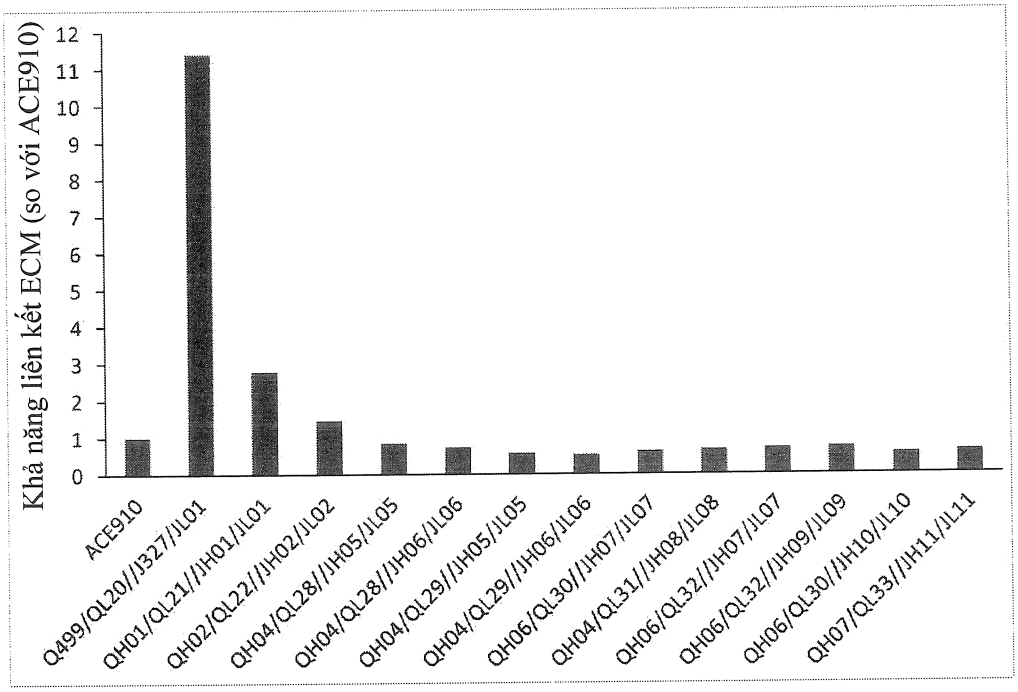

Khả năng liên kết ECM (so với ACE910)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
ACE910
Q499/QL20//J327/JL01
QH01/QL21//JH01/JL01
QH02/QL22//JH02/JL02
QH04/QL28//JH05/JL05
QH04/QL28//JH06/JL06
QH04/QL29//JH05/JL05
QH04/QL29//JH06/JL06
QH06/QL30//JH07/JL07
QH04/QL31//JH08/JL08
QH06/QL32//JH07/JL07
QH06/QL32//JH09/JL09
QH06/QL30//JH10/JL10
QH07/QL33//JH11/JL11

FIG. 6

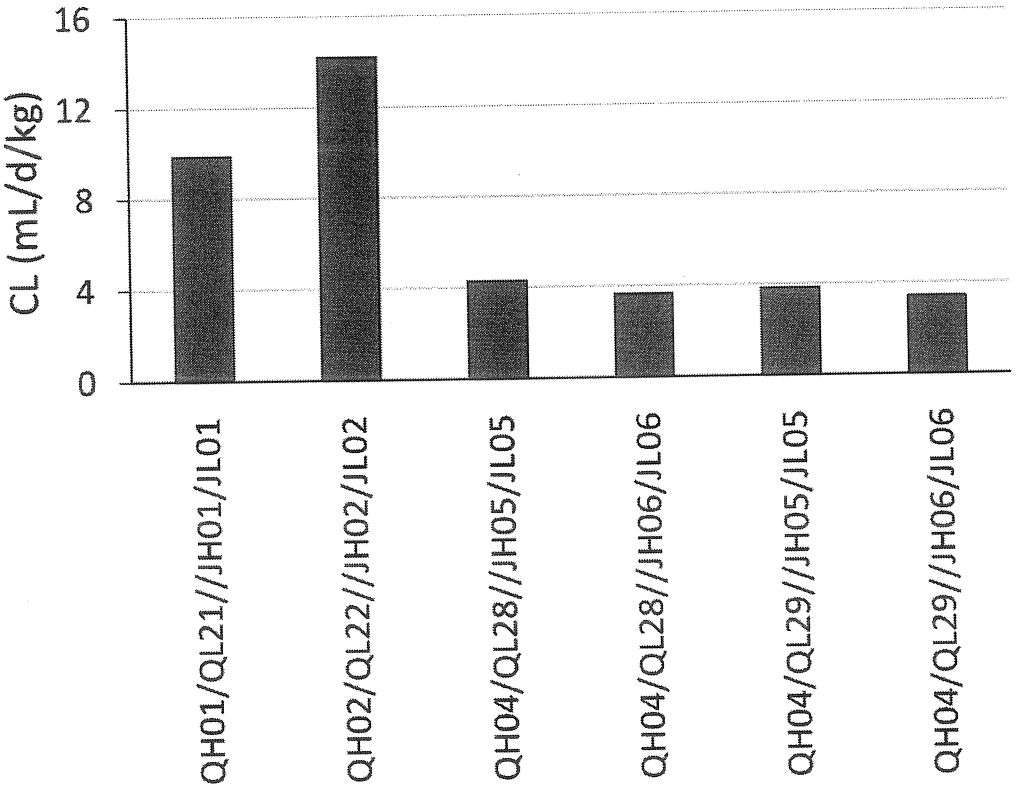
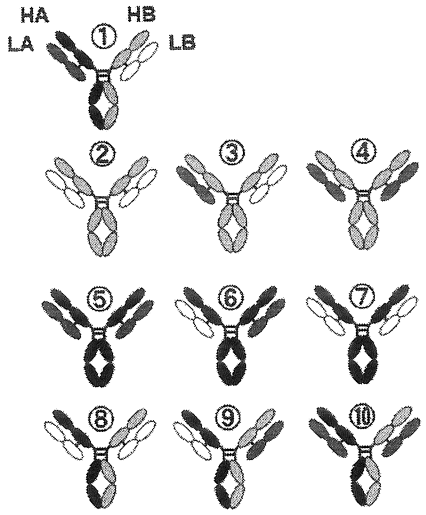

16
12
8
4
0
CL (mL/d/kg)
QH01/QL21//JH01/JL01
QH02/QL22//JH02/JL02
QH04/QL28//JH05/JL05
QH04/QL28//JH06/JL06
QH04/QL29//JH05/JL05
QH04/QL29//JH06/JL06

FIG. 7

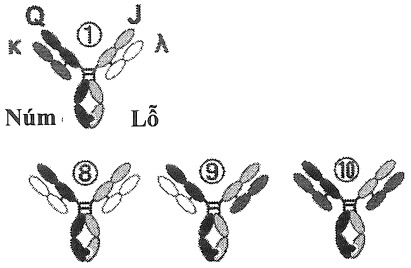
Các cặp không phù hợp có thể được biểu hiện theo lý thuyết

| Số | Tên | Số | Tên |
|---|---|---|---|
| ① | **HA/LA//HB/LB** | ⑥ | **HA/LB//HA/LA** |
| ② | **HB/LB//HB/LB** | ⑦ | **HA/LB//HA/LB** |
| ③ | **HB/LA//HB/LB** | ⑧ | **HA/LB//HB/LB** |
| ④ | **HB/LA//HB/LA** | ⑨ | **HA/LB//HB/LA** |
| ⑤ | **HA/LA//HA/LA** | ⑩ | **HA/LA//HB/LA** |




Các cặp không phù hợp sau khi đưa vào KiH

| Số | Tên | Số | Tên |
|---|---|---|---|
| ① | **Q/κ//J/λ** | ⑥ | Q/λ//Q/κ |
| ② | J/λ//J/λ | ⑦ | Q/λ//Q/λ |
| ③ | J/κ//J/λ | ⑧ | **Q/λ//J/λ** |
| ④ | J/κ//J/κ | ⑨ | **Q/λ//J/κ** |
| ⑤ | Q/κ//Q/κ | ⑩ | **Q/κ//J/κ** |




Các phân tử để phân tích

FIG. 8

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 1 | K | - | K | - | E | - | E | E | E | E | E | E | E | K | K | K | K | K | KiH | 100,00 | 99,63 | 99,84 |

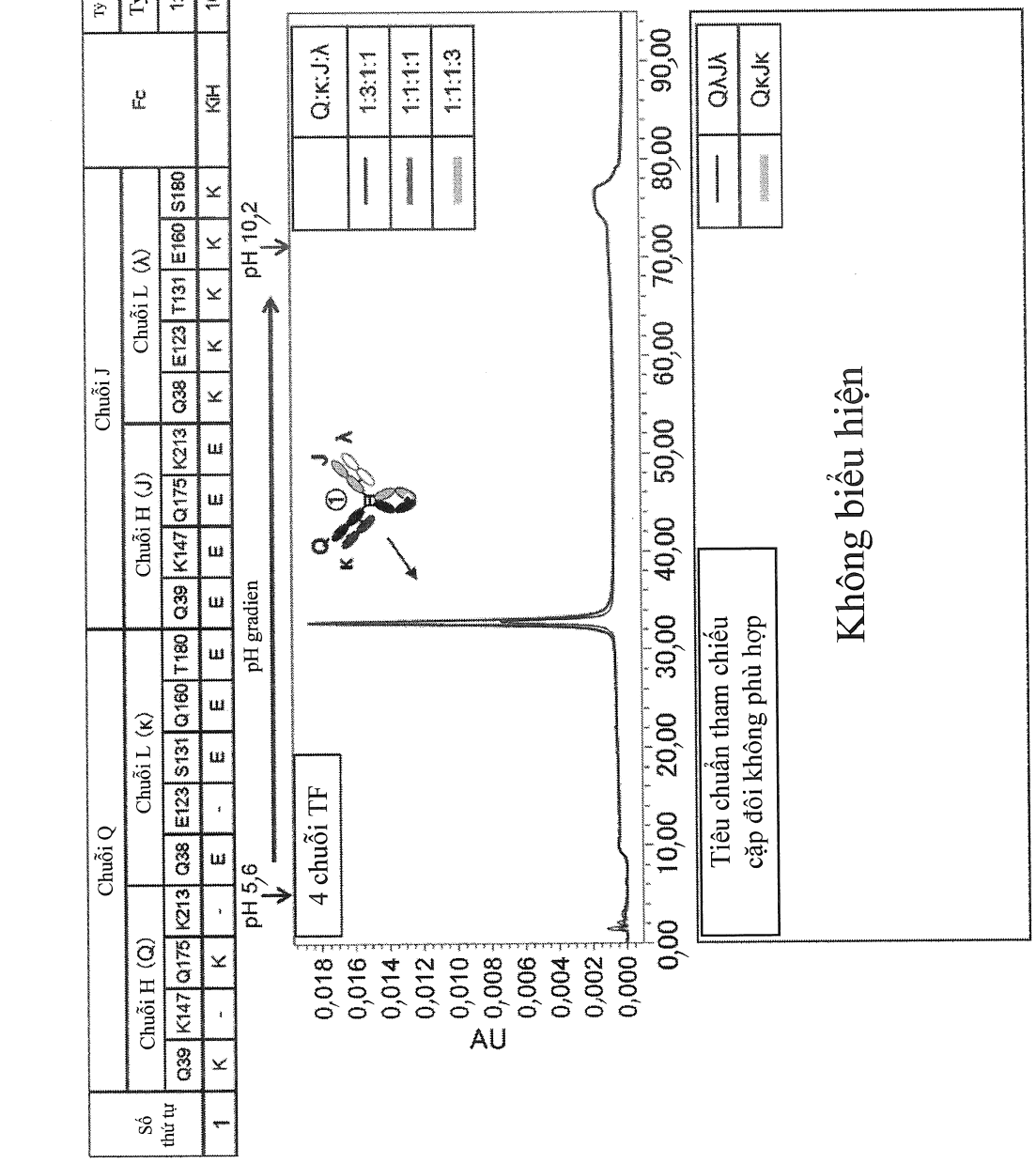



FIG. 9-1

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 2 | - | - | K | - | - | - | E | E | E | - | E | E | E | - | K | K | K | K | KiH | 99,89 | 99,80 | 99,58 |

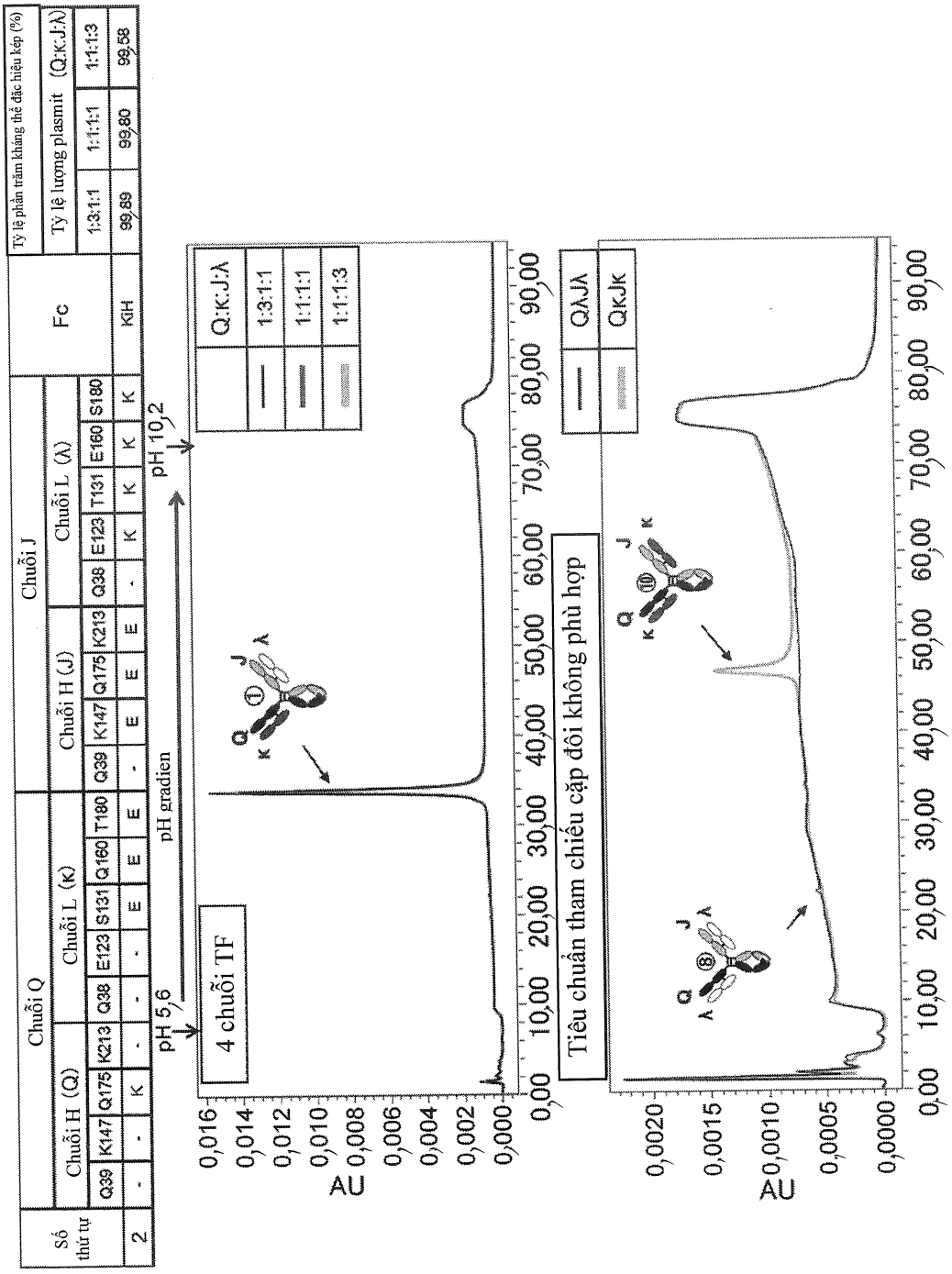



FIG. 9-2

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 3 | - | - | - | - | - | - | E | - | E | - | E | - | - | - | - | K | - | K | KiH | 94,57 | 95,90 | 94,63 |

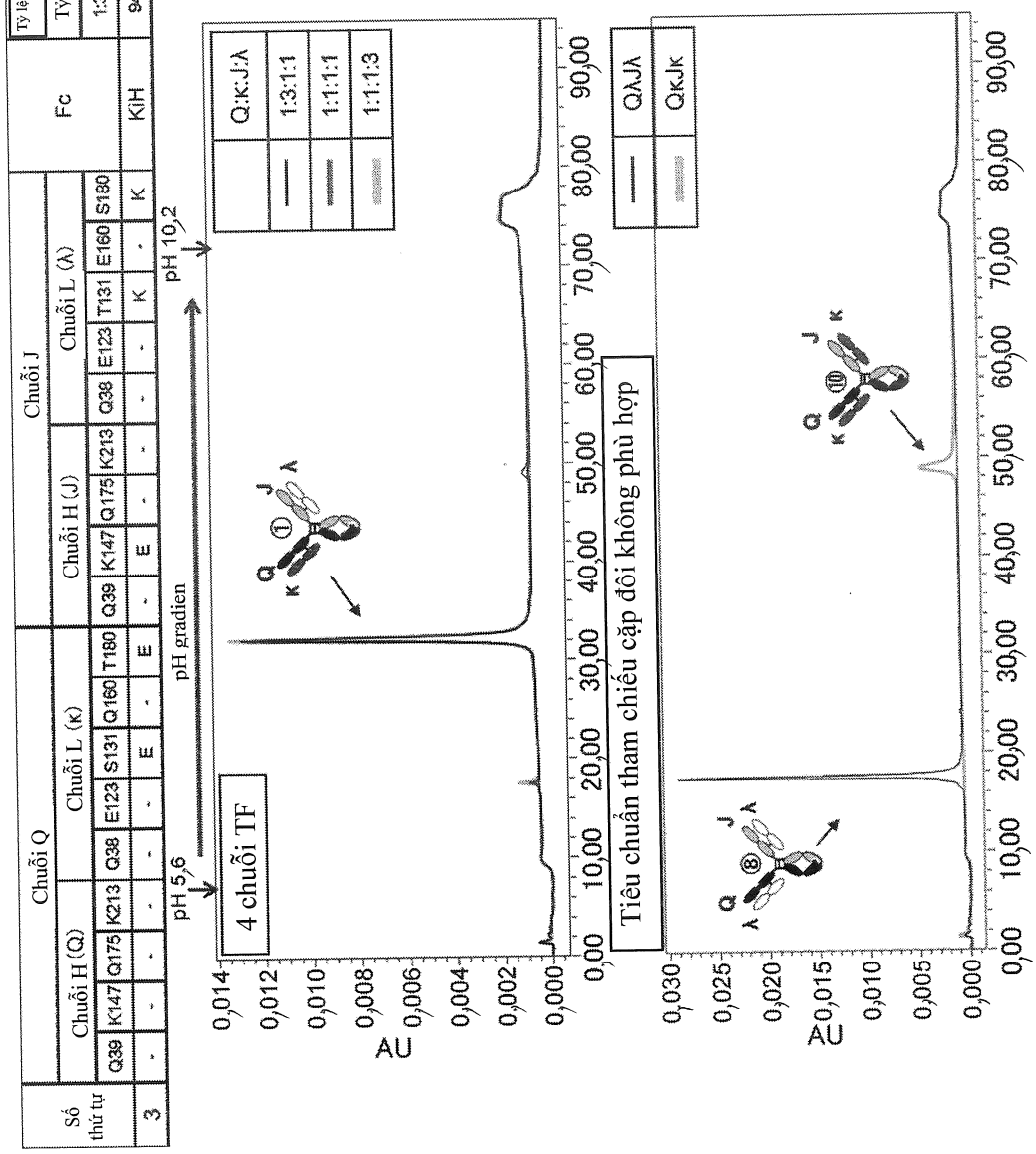



FIG. 9-3

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 4 | - | - | K | - | - | - | - | E | E | - | E | E | - | - | - | - | K | K | KiH | 96,95 | 98,67 | 49,99 |

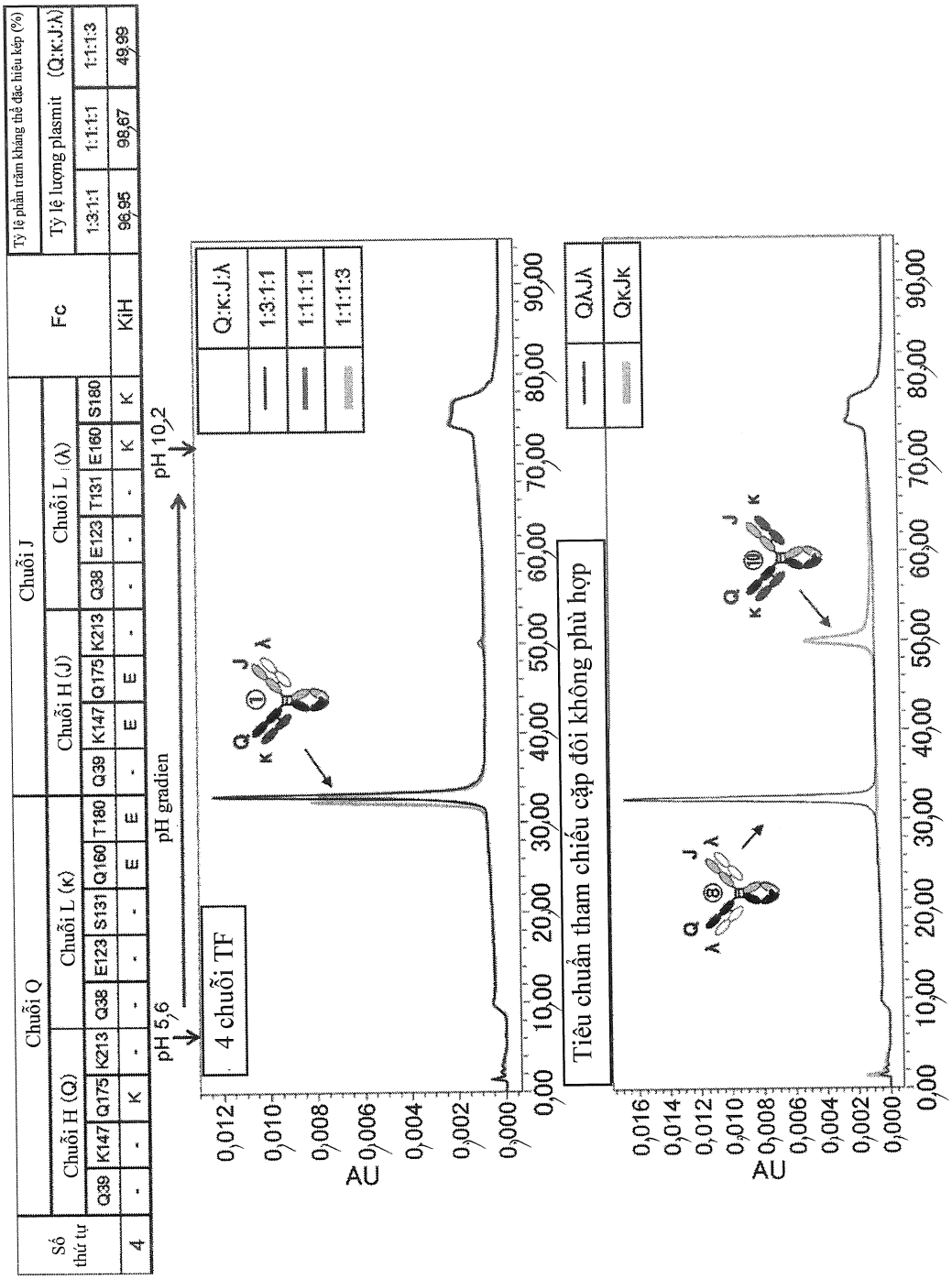



FIG. 9-4

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | E | - | E | - | E | - | K | - | - | K | KiH | 89,47 | 82,13 | 42,25 |

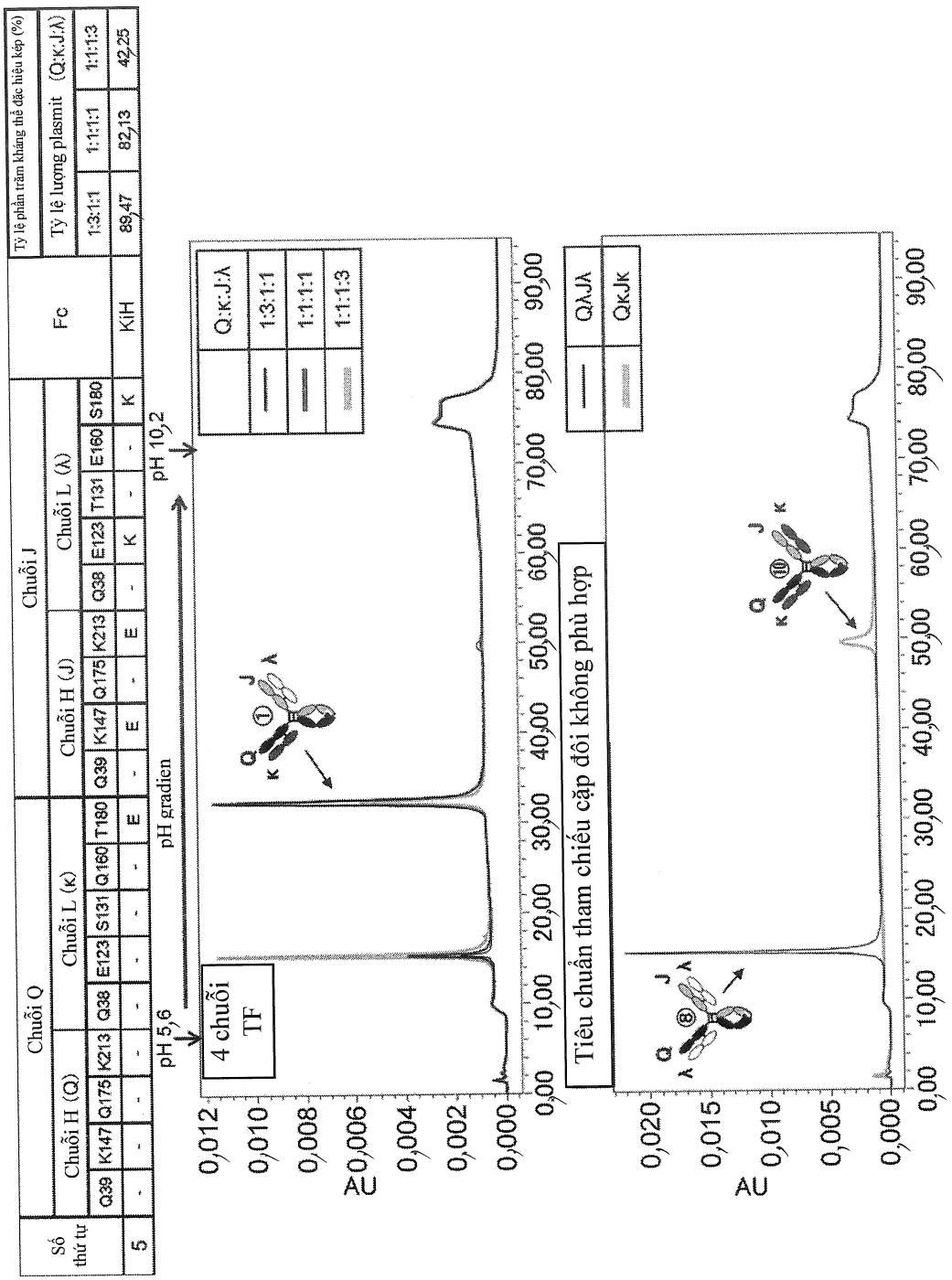



FIG. 9-5

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 6 | - | - | K | - | - | - | E | E | - | - | E | E | - | - | - | K | K | - | KiH | | 99,15 | 98,98 | 95,23 |

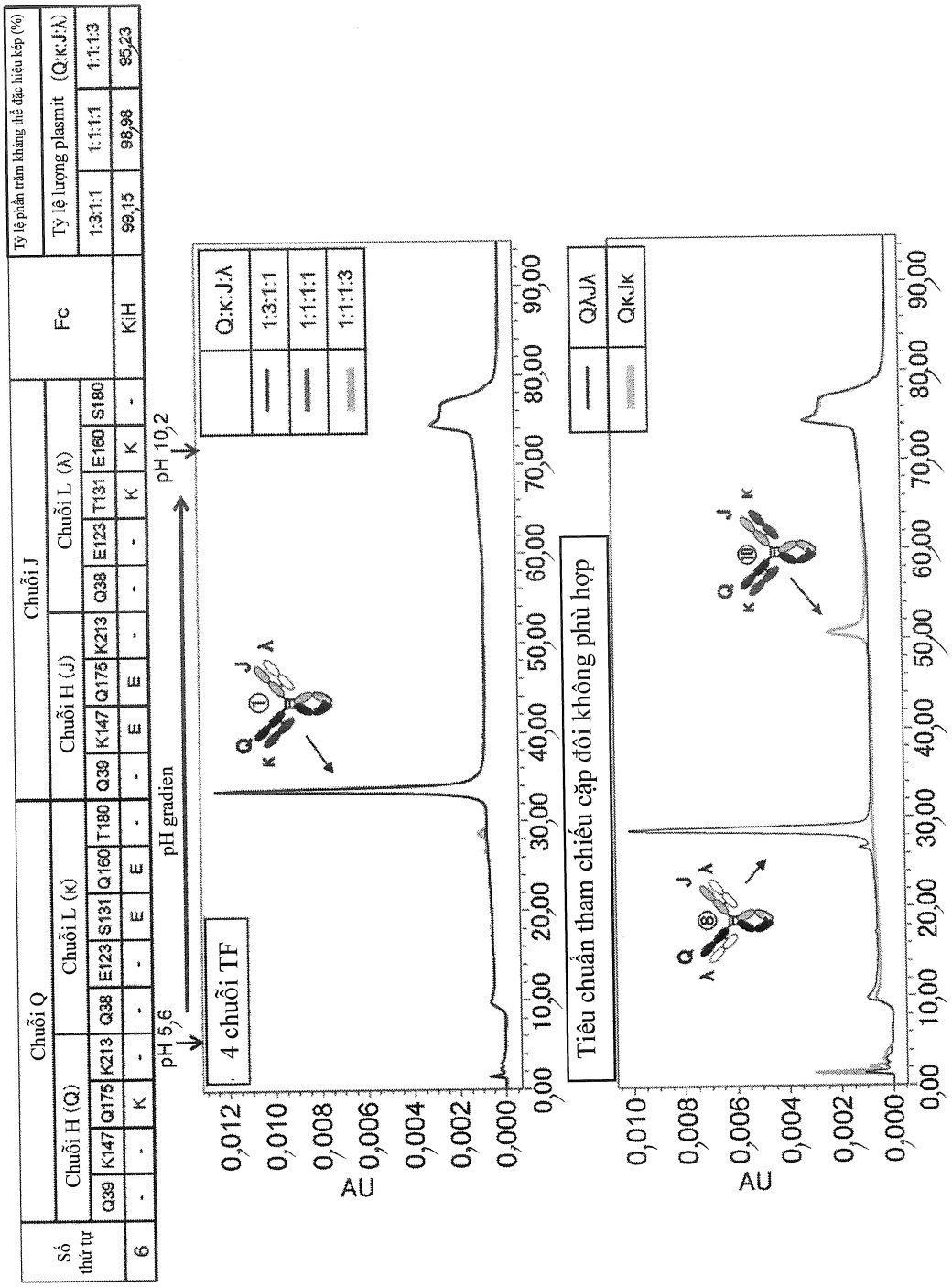



FIG. 9-6

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 7 | - | - | - | - | - | - | E | - | - | - | E | - | E | - | K | K | - | - | KiH | 98,19 | 93,81 | 81,57 |

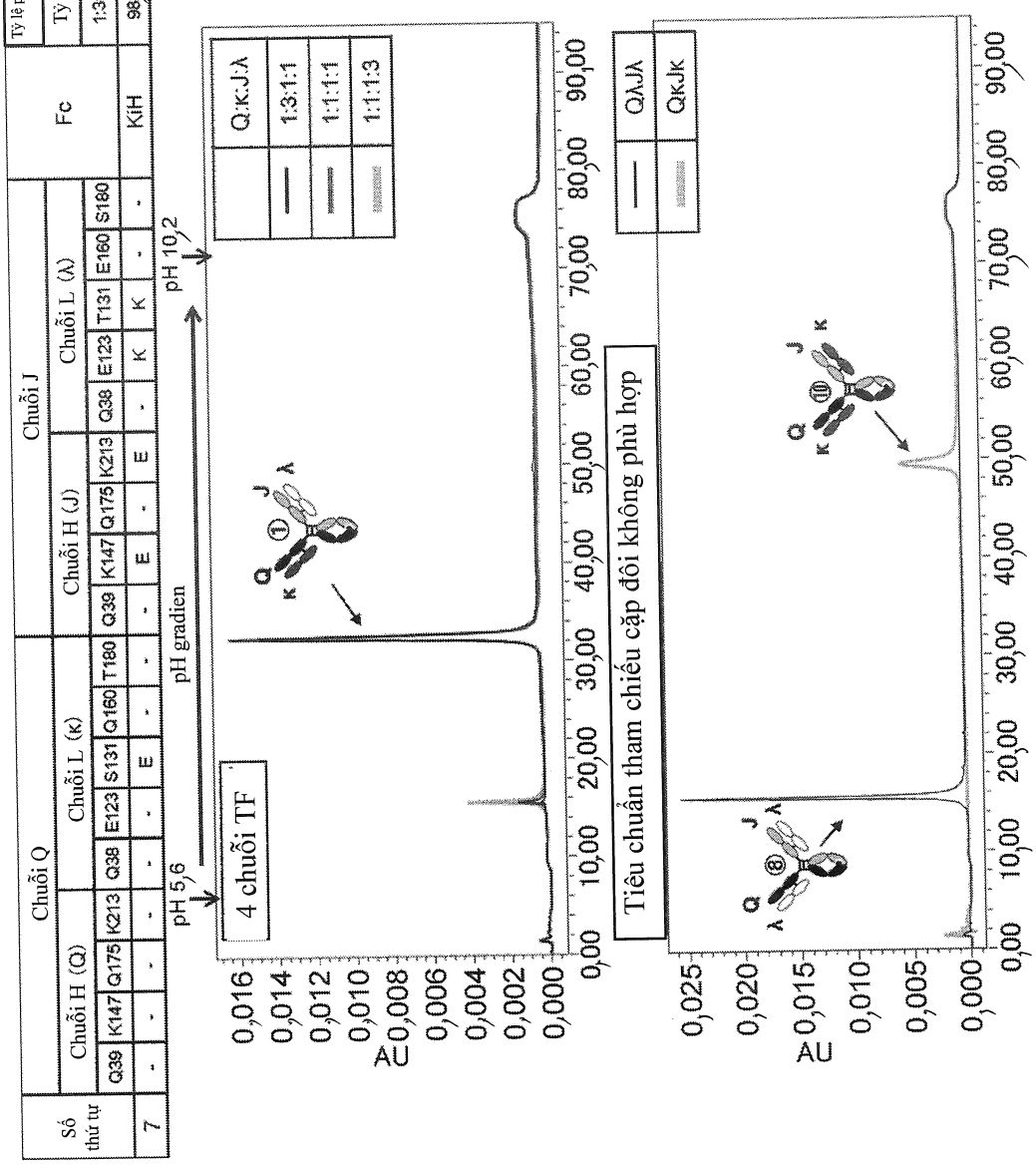



FIG. 9-7

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 8 | - | - | K | - | - | - | - | E | - | - | - | E | E | - | K | - | K | - | KiH | 83,85 | 79,87 | 23,41 |

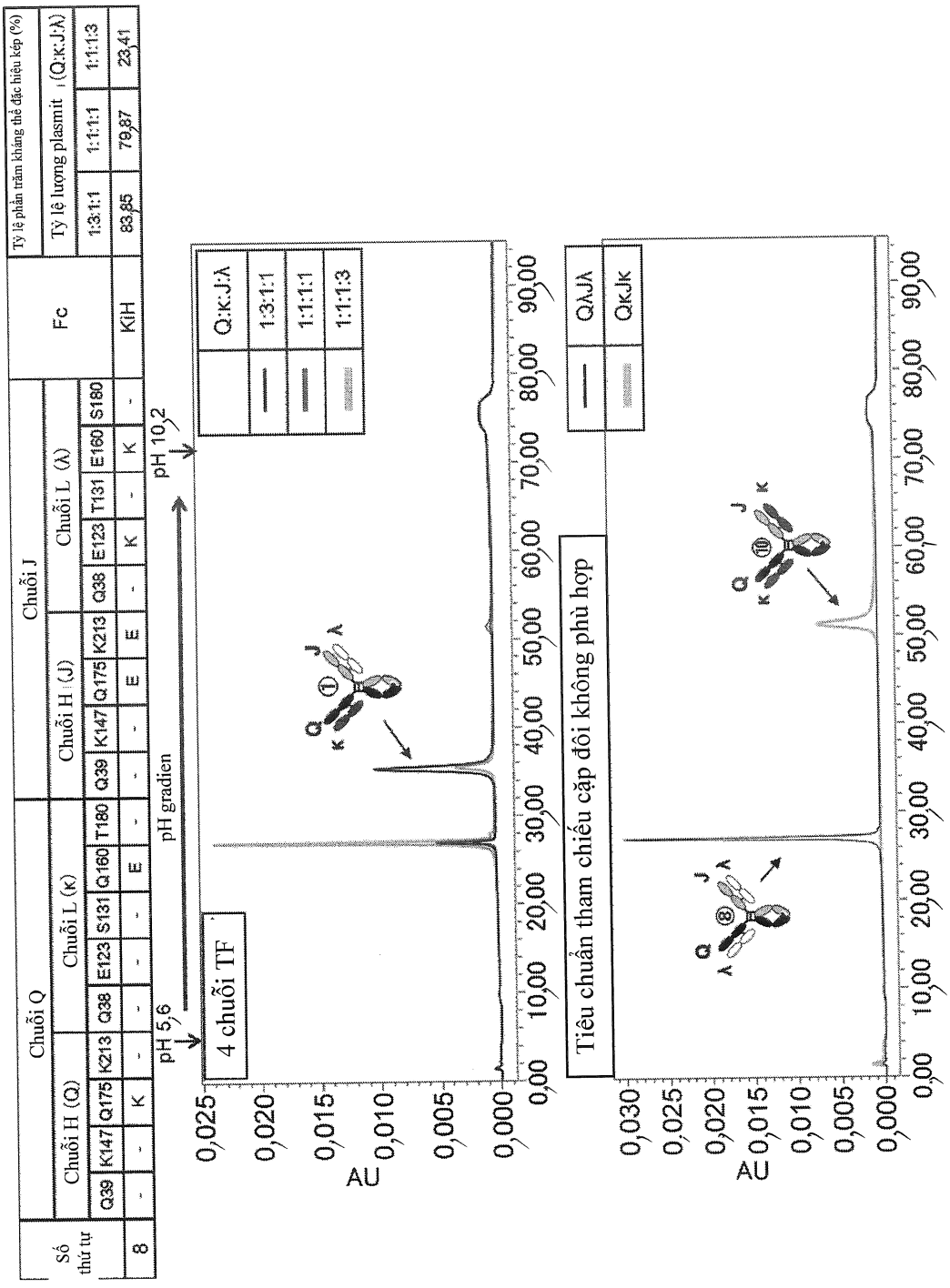



FIG. 9-8

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 9 | - | - | K | - | - | - | E | - | E | - | E | E | - | - | - | K | - | K | KiH | 97,53 | 97,75 | 96,62 |

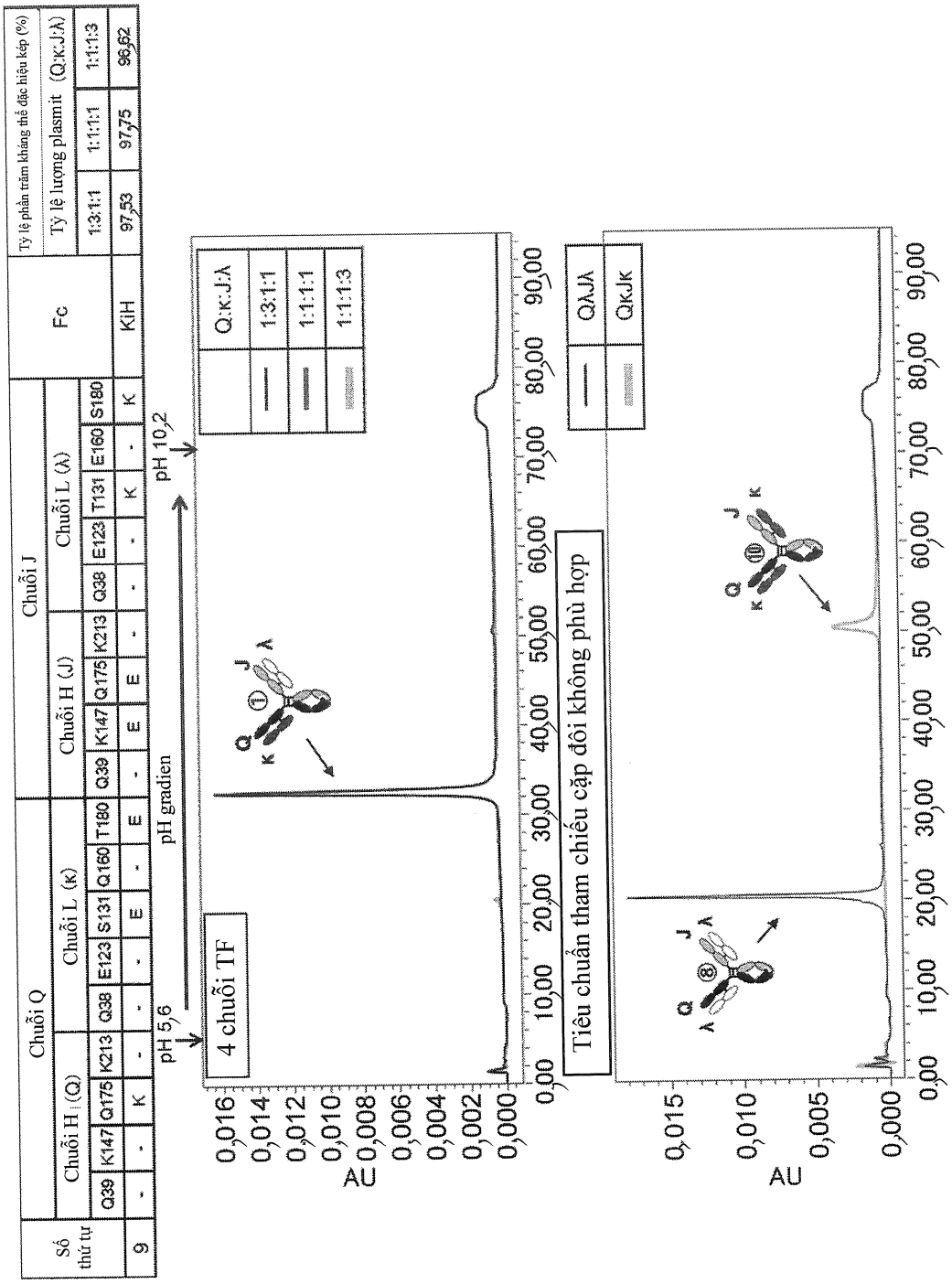



FIG. 9-9

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | E | - | E | - | - | - | - | - | - | K | KiH | 83,72 | 78,41 | 43,93 |

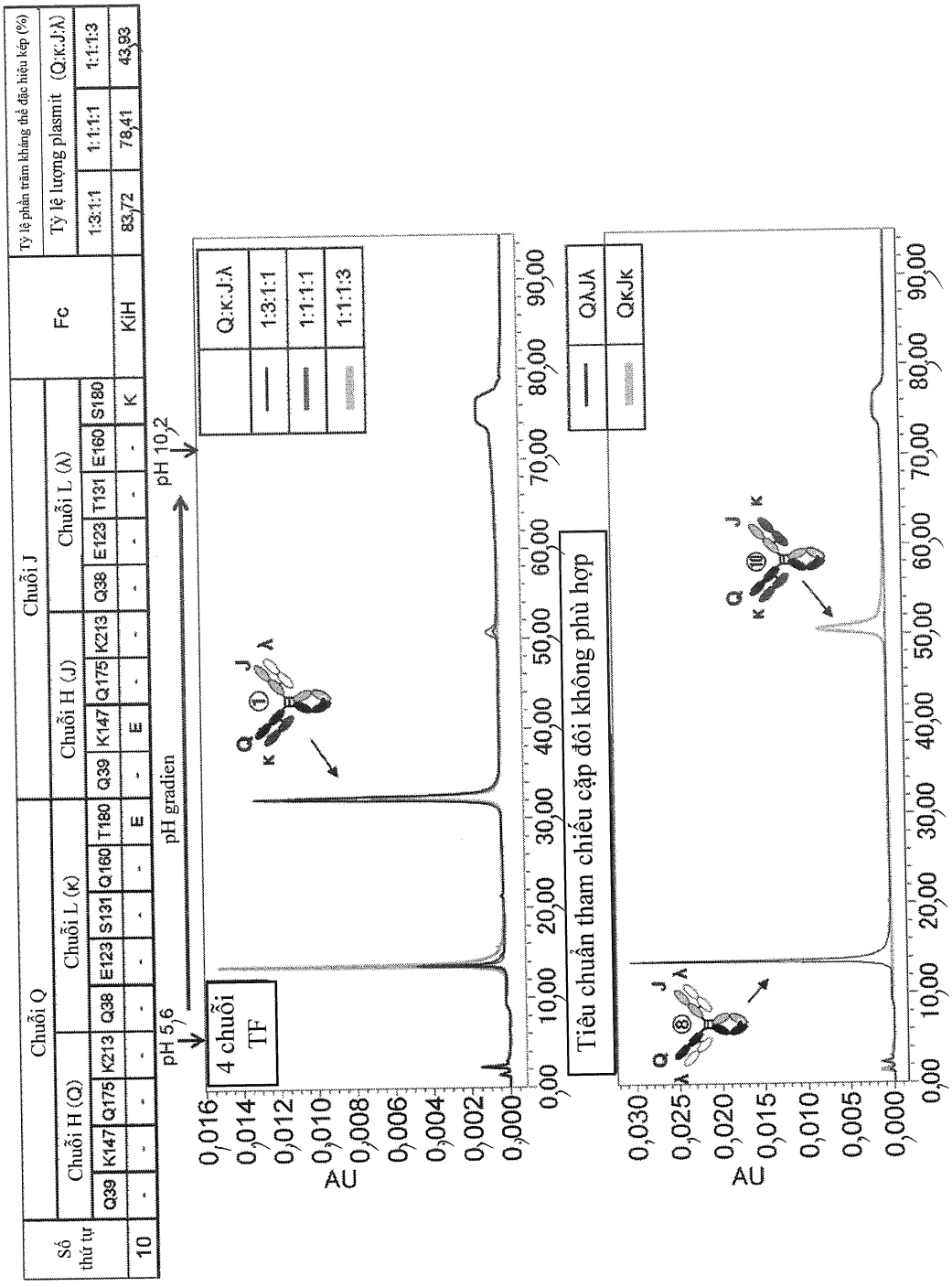



FIG. 9-10

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 11 | - | - | - | - | - | - | E | - | - | - | E | - | - | - | - | K | - | - | KiH | 91,72 | 86,80 | 36,37 |

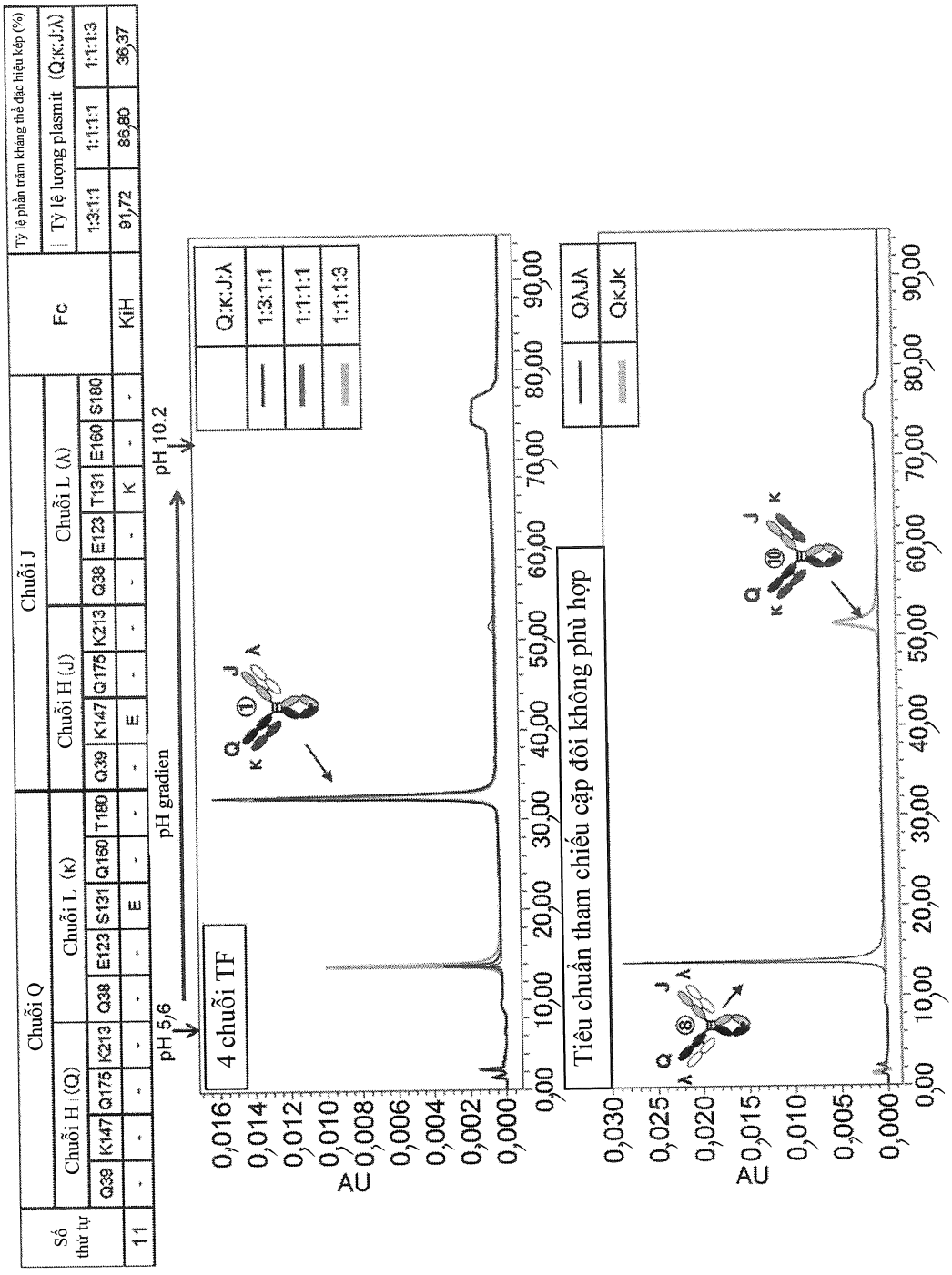



FIG. 9-11

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 12 | - | - | K | - | - | - | - | E | - | - | - | E | - | - | - | - | K | - | KiH | 82,07 | 78,11 | 23,14 |

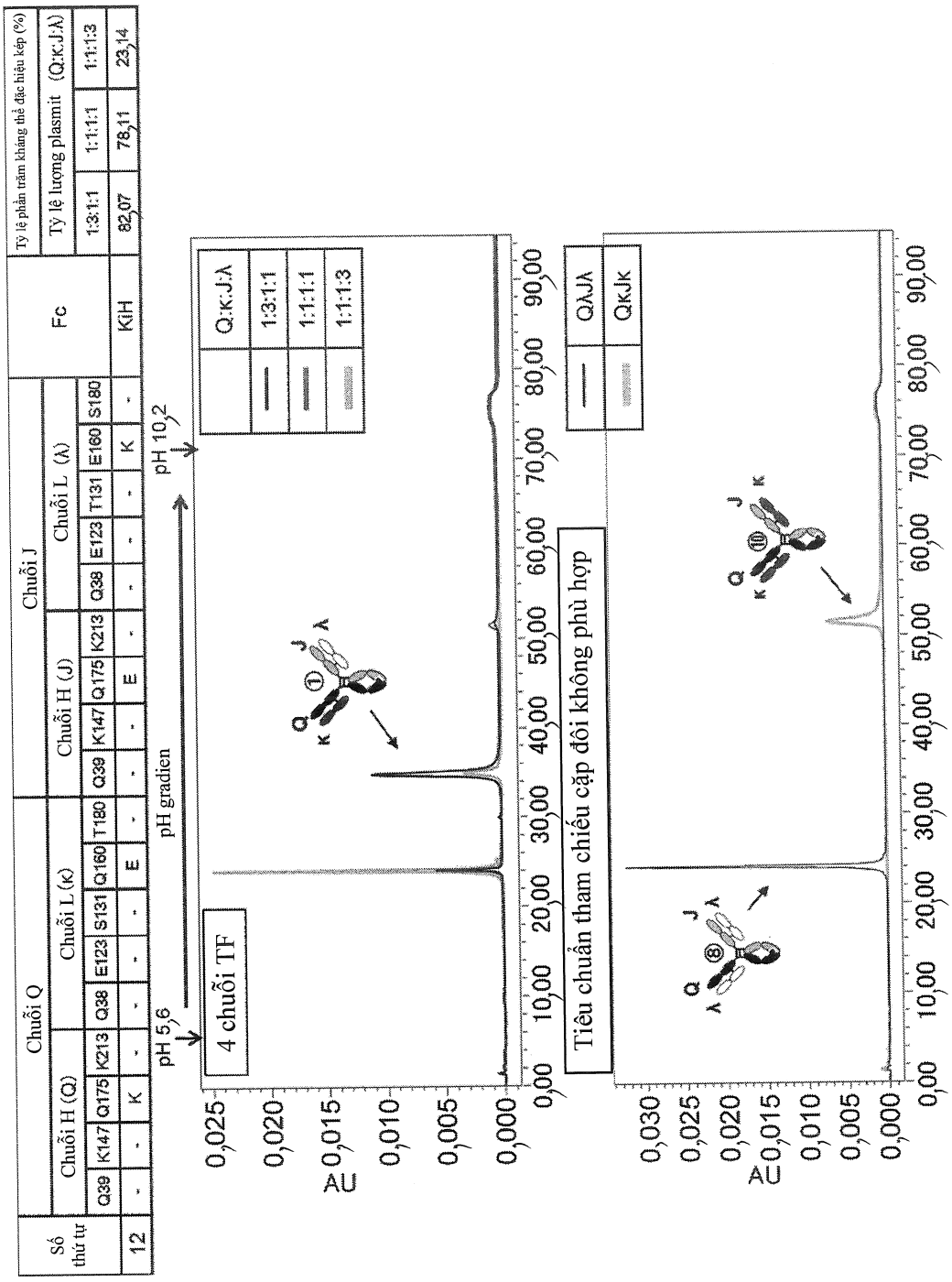



FIG. 9-12

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 13 | - | - | - | - | - | - | A | - | - | - | - | - | E | - | K | - | - | - | KiH | 73,93 | 66,89 | 24,94 |

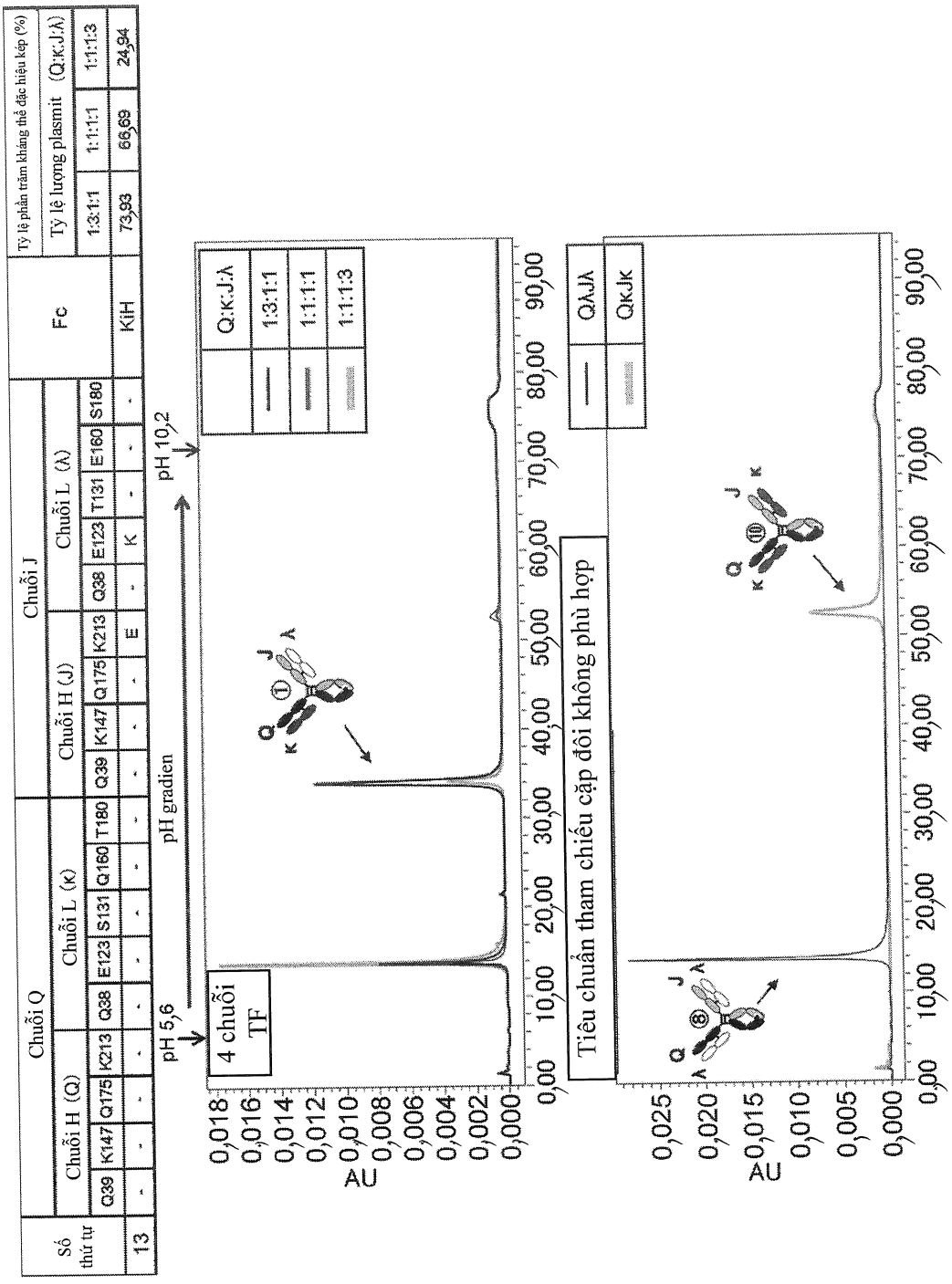



FIG. 9-13

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 14 | - | - | K | - | - | - | - | - | E | - | - | E | - | - | - | - | - | K | KiH | | 80,27 | 76,61 | 46,85 |

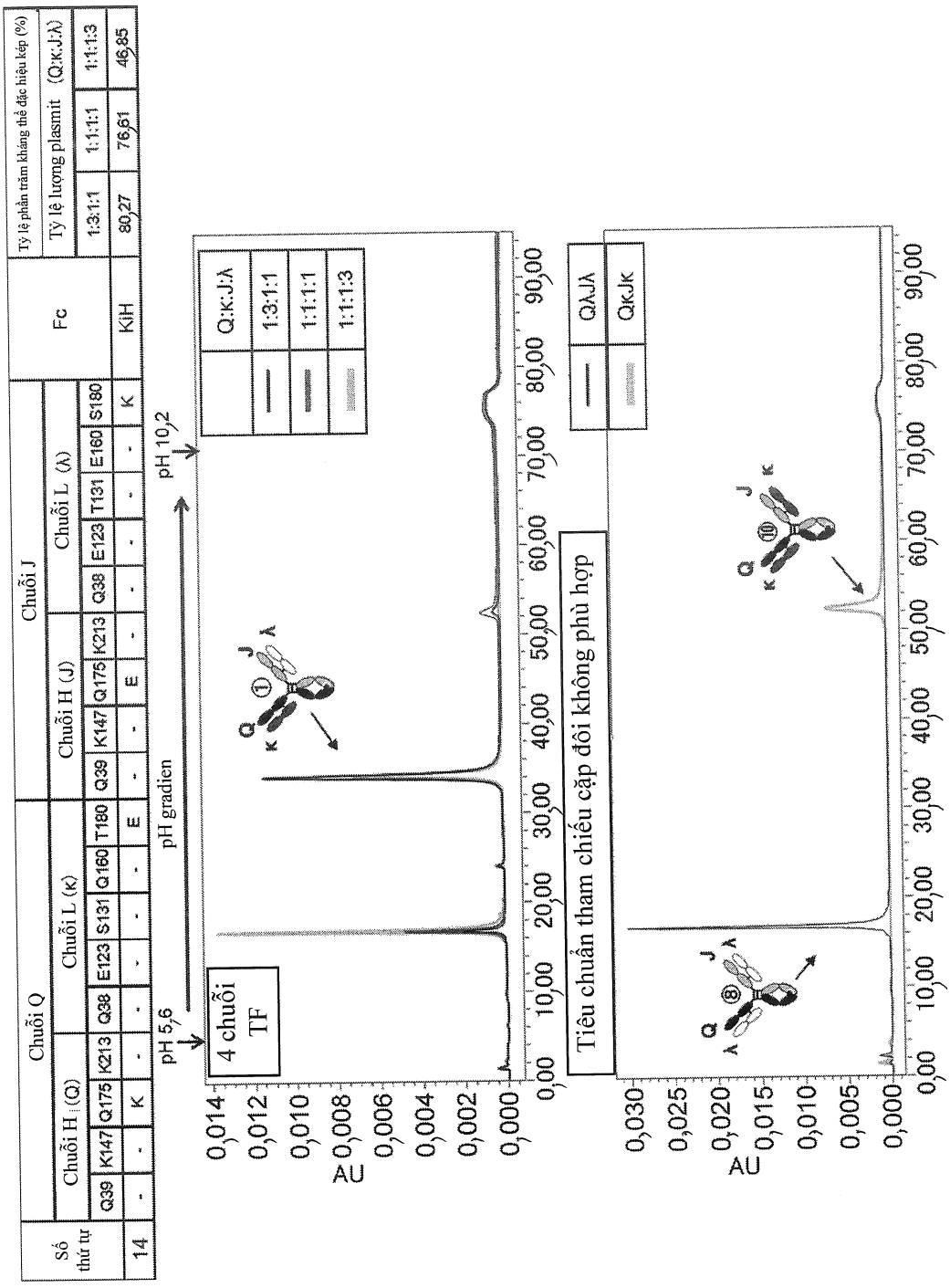



FIG. 9-14

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 15 | - | - | K | - | - | - | E | - | - | - | - | E | - | - | - | K | - | - | 84,05 | 87,10 | 79,13 |

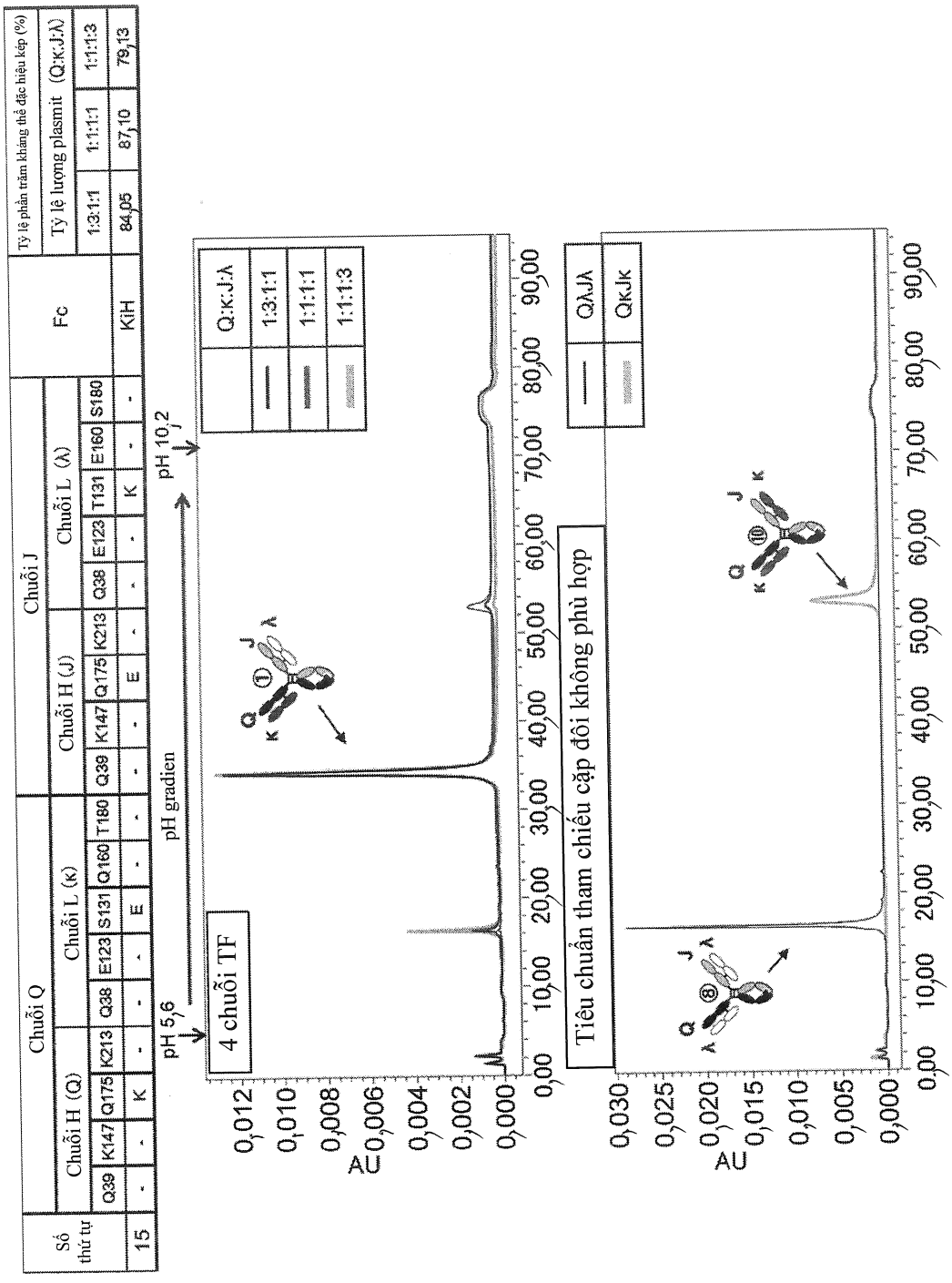



FIG. 9-15

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 16 | - | E | E | - | - | - | K | - | K | - | - | K | - | - | - | E | - | E | KiH | | 98,30 | 95,98 | 81,09 |

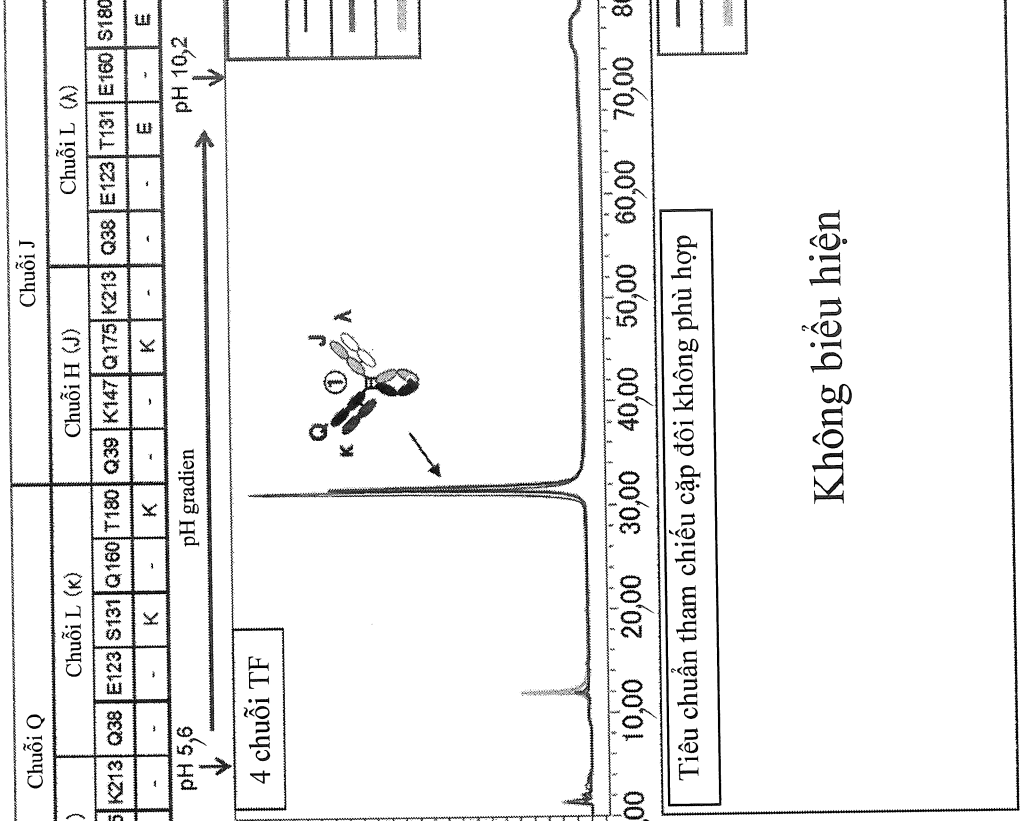



FIG. 9-16

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 17 | - | E | E | - | - | - | K | K | - | - | - | K | - | - | - | E | - | - | KiH | 93,48 | 83,38 | 50,66 |

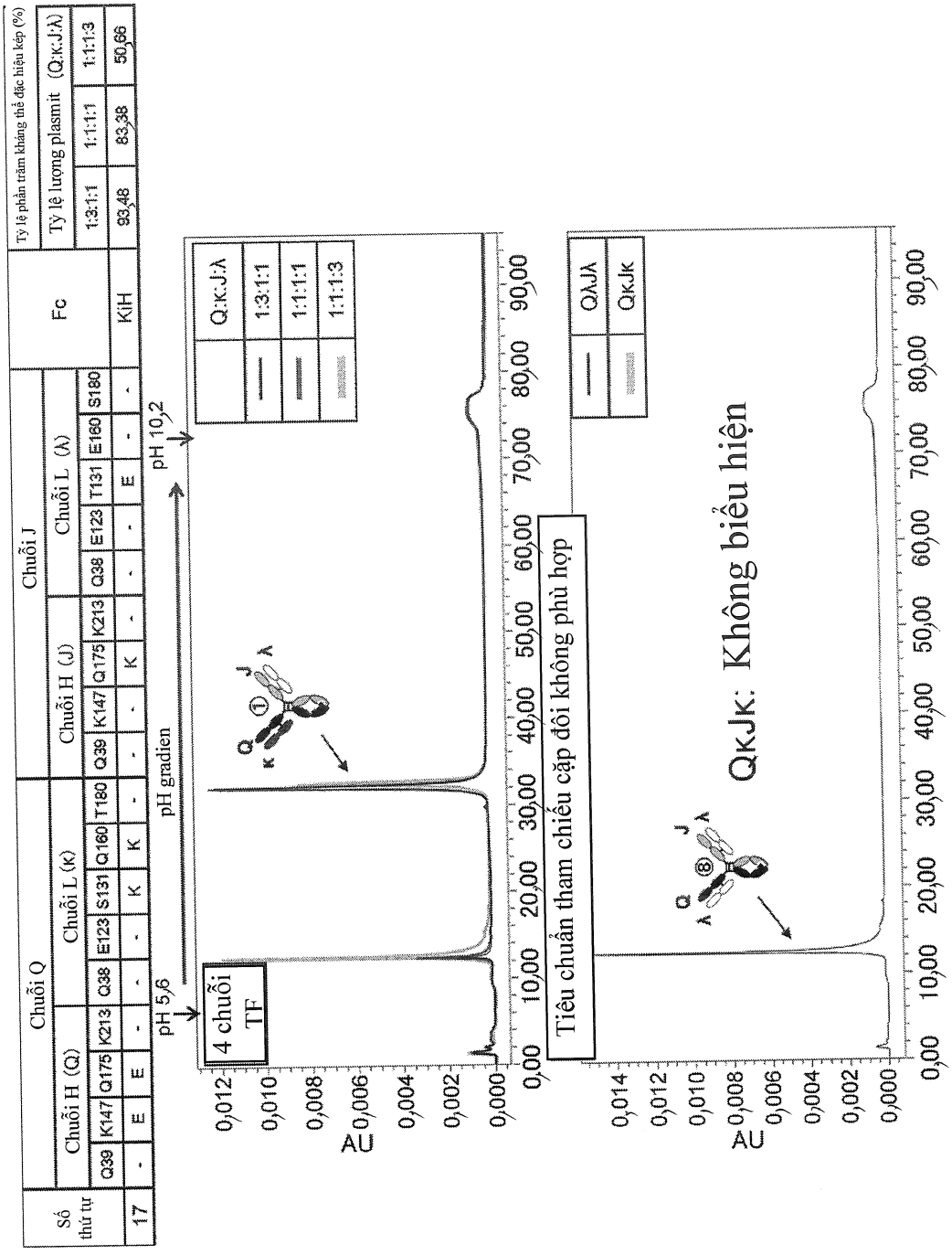



FIG. 9-17

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi L (κ) | | | | | | Chuỗi H (J) | | | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 18 | E | - | K | - | K | - | E | - | E | K | E | E | - | E | - | K | - | K | KiH | 96,50 | 99,24 | 99,85 | |

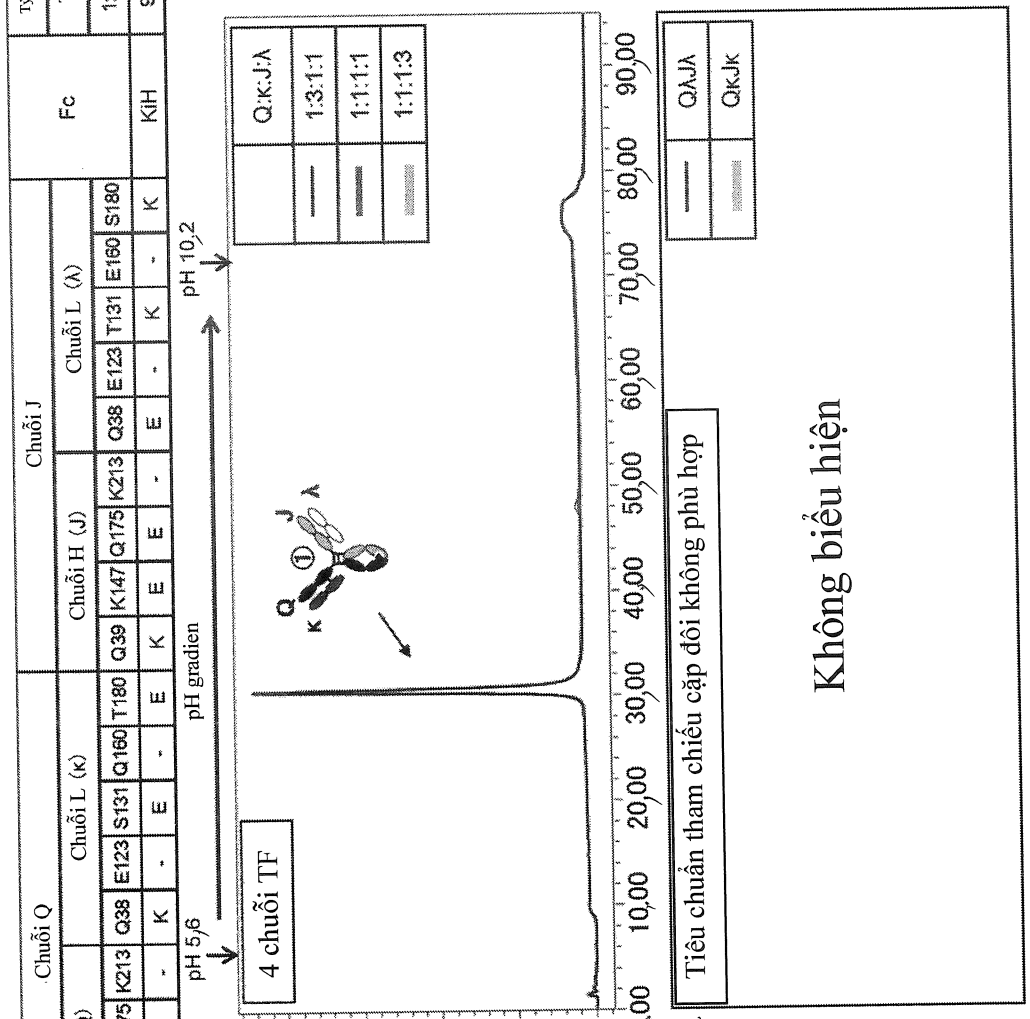



FIG. 9-18

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | | Chuỗi $L_1$ (κ) | | | | Chuỗi $H_1$ (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 19 | K | - | K | - | E | - | E | - | E | E | E | E | - | K | - | K | - | K | KiH | 99,59 | 98,42 | 97,75 | | |

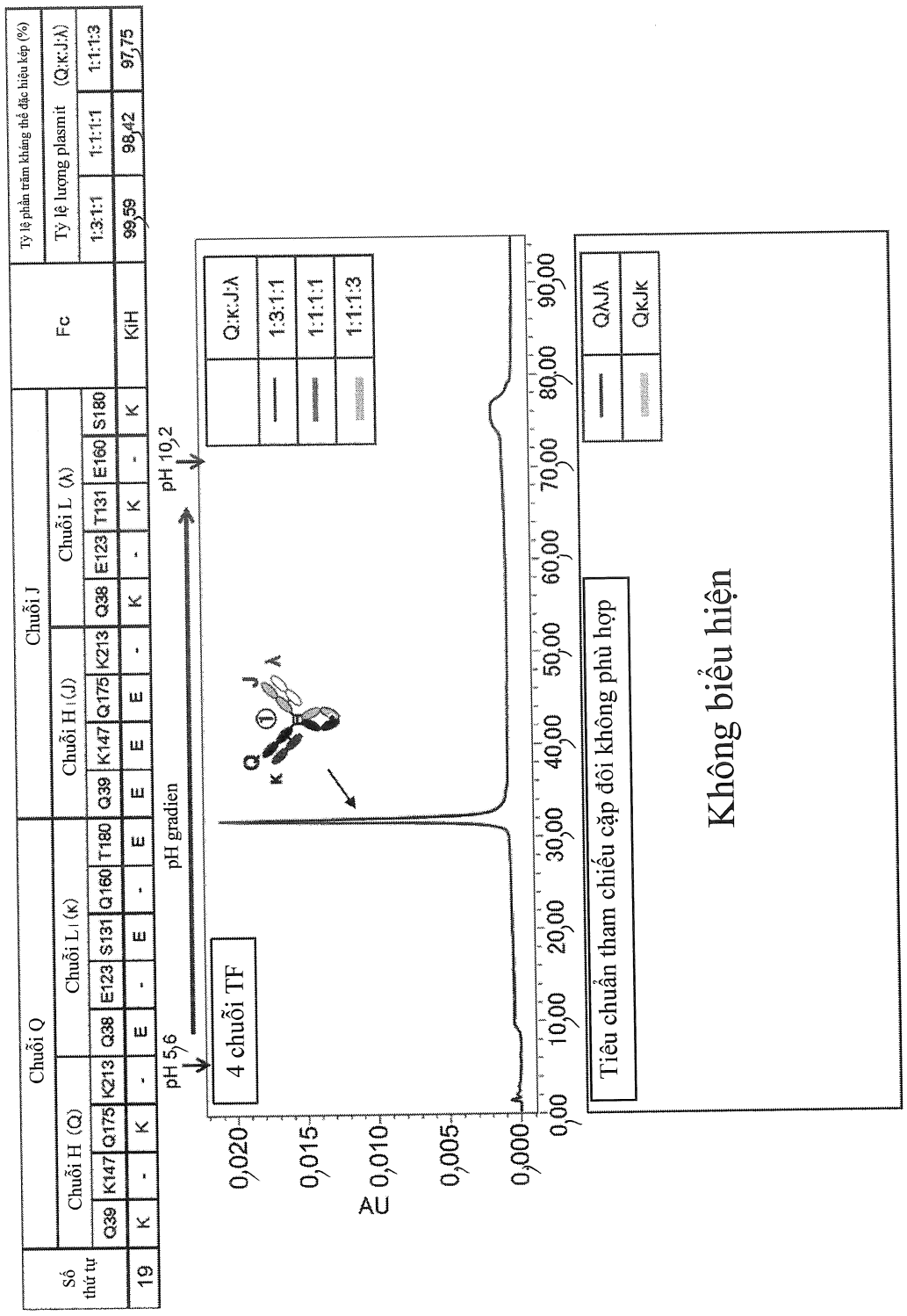



FIG. 9-19

| Số thứ tự | Chuỗi Q | | | | | | | | Chuỗi J | | | | | | | | Fc | Tỷ lệ phần trăm kháng thể đặc hiệu kép (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Chuỗi H (Q) | | | Chuỗi L (κ) | | | | | Chuỗi H (J) | | | | Chuỗi L (λ) | | | | | Tỷ lệ lượng plasmit (Q:κ:J:λ) | |
| | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | S131 | Q160 | T180 | Q39 | K147 | Q175 | K213 | Q38 | E123 | T131 | E160 | S180 | | 1:3:1:1 | 1:1:1:1 | 1:1:1:3 |
| 20 | E | - | K | - | K | - | E | - | E | K | E | E | - | E | - | K | - | K | E356/K439E | 79,51 | 85,59 | 82,39 |

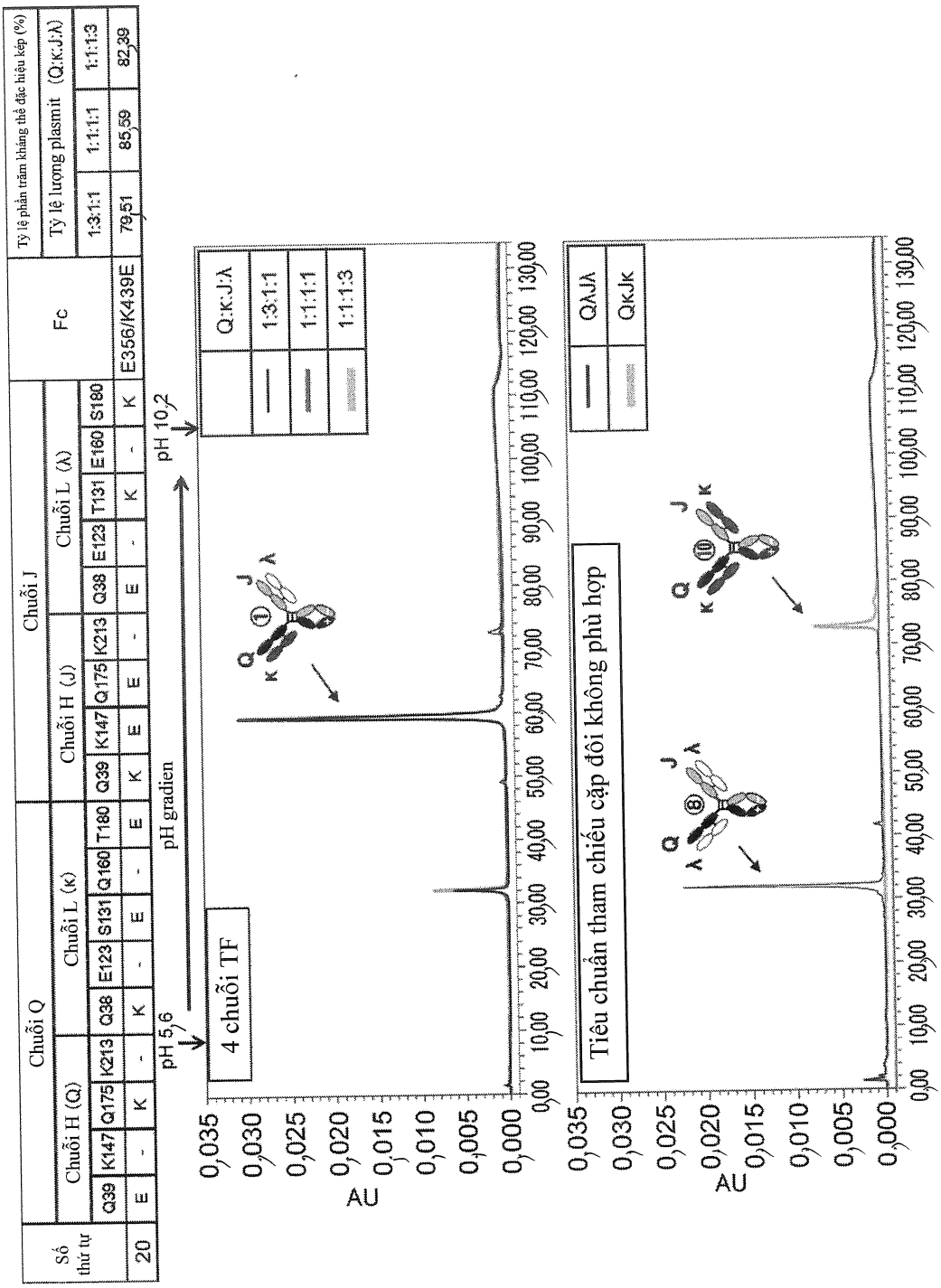
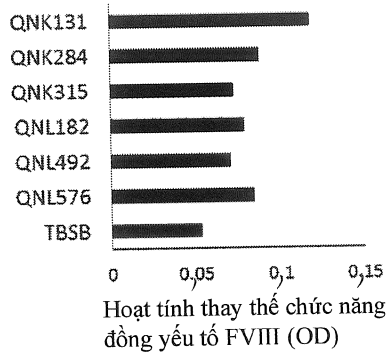



FIG. 9-20


QNK131
QNK284
QNK315
QNL182
QNL492
QNL576
TBSB
0
0,05
0,1
0,15
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)

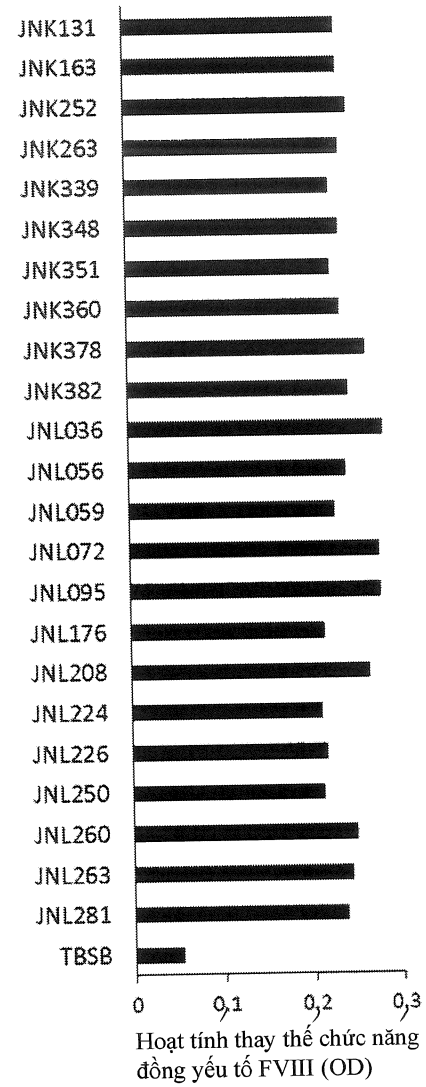

JNK131
JNK163
JNK252
JNK263
JNK339
JNK348
JNK351
JNK360
JNK378
JNK382
JNL036
JNL056
JNL059
JNL072
JNL095
JNL176
JNL208
JNL224
JNL226
JNL250
JNL260
JNL263
JNL281
TBSB
0
0,1
0,2
0,3
Hoạt tính thay thế chức năng đồng yếu tố FVIII (OD)

FIG. 10

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> C1-A1716P

<150> JP 2017-189647
<151> 2017-09-29

<160> 287

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 1

Tyr Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 2

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

Gly

<210> 3
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 3

Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 4

Asp Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 5

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

Asp

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 6

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 7

Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln Leu Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 8

Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser
1 5

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 9

Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu Thr
1 5

<210> 10
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 11
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 11

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 12
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 12

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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
20 25 30

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

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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> 13
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 13

Glu Ile Val Leu 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 Lys Arg Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 14
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 14

Asp Ile Gln Leu 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 Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Leu Asn Ser Tyr Leu Gly
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 15
<211> 111
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 15

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

Gln Pro Ala Ser Val Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Thr
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Ile Gln Ala Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 16

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

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

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Val Pro Asn Ser Gly Tyr
85 90 95

Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Val Thr Val Val
100 105

<210> 17
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 17

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

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

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 18

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

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

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

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Val Pro Asn Ser Gly Tyr
85 90 95

Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Val Thr Val Val
100 105

<210> 19
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 19

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

Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Asp Arg
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Pro Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Asn Phe Pro Trp
85 90 95

Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Phe Lys
100 105

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 20

Asn 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 Arg 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 Gly Ala Phe Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr His Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 21

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

Asp Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Thr Ser
20 25 30

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

Phe Asp Thr Ser Asn Leu Glu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Lys Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Phe Ala Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Ile Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Thr
100 105

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 22

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

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 23

Asp Ile Val 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 Thr Ser Gln Tyr Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Asn Ser Val Ser Arg Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Gly 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 Gly Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 24
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 24

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

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

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

<210> 25

<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 25

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

Glu Ser Gly Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Thr Arg
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Gly Asp Ser Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Ser Ser Gln
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 26
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 26

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Arg
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val 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 Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
100 105

<210> 27
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 27

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

Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Thr 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 Thr Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Trp
85 90 95

Ser Phe Gly Pro Gly Thr Asn Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 28

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Lys Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Asp Ser Ala Thr Asn Leu Arg 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 Leu Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Lys Ser Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 29
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 29

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 30
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 30

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

Thr Ala Arg Ile Pro Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Asn Lys Asn Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Arg Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly His Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly

65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 31
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 31

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 32
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 32

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

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

Val Ser Trp His Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Asn Asp Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 33
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 33

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

Arg Val Thr Val Ser Cys Asn Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Thr Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ile
35 40 45

Val Ile Phe Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Val Ile Ala Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 34
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 34

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ile Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ala
85 90 95

Ser Ser Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 35
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 35

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

Arg Val Asn Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Ala Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Val Pro Lys Val Leu
35 40 45

Ile Ser Asp Asn Asp Gln Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Arg Met
85 90 95

Arg Gly Phe Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 36
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 36

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 37

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Arg Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Arg
20 25 30

Ala Val Ser Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Lys Pro Pro Arg Leu Ile
35 40 45

Val Tyr His Asp Asp Val Leu Ser Ser Gly Val Ser Gly Arg Phe Ser
50 55 60

Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Ala Arg Leu

85 90 95

Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 38
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 38

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

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

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 39
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 39

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

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

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Thr Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Ser
85 90 95

Gly Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 40

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

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

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

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

Arg Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 41
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 41

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Phe Tyr
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Asn Thr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 42
<211> 106
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 42

Glu Ile Val Leu 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 Arg 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 Lys Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 43

Glu Ile Val Leu 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 Arg Arg 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 Lys Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 44

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val

100 105

<210> 45
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 45

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 46
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 46

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 47
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 47

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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
20 25 30

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

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 48
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 48

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Ser Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 49

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Ser Gly His Asn Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 50
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 50

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr His Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 51
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 51

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

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

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 52

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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
20 25 30

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

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 53
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 53

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 Lys Ala Ser Lys Asn Ile Glu Arg Asn
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Asp Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 54
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 54

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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Asp Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 55

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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn
20 25 30

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

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 56
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 56

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 57

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 58
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 58

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 59

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 60
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 60

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 61
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 61

Glu Ile Val Leu 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 Arg Arg Asp
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 Arg 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 Lys Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 62

Glu Ile Val Leu 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 Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
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 Arg 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 Arg Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 63
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 63

Glu Ile Val Leu 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 Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg 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 Arg Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 64
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 64

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
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 Glu 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 Arg Asp Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 65
<211> 107
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 65

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 66
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 66

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 67

Glu Ile Val Leu 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 Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 68

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp 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 Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 69
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 69

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 70

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 71

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 72

Glu Ile Val Leu 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 Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 73
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 73

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

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

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

Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe

50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 74

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 75
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 75

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 76

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 77

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 78
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 78

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 79
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 79

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 80

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 81

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

1 5 10 15

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 82

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe

50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 83

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 84

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 85

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 86

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 87
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 87

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 88
<211> 107
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 88

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 89
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 89

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe

35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 90
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 90

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val

100 105

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 91

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 92
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 92

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 93
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 93

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 94
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 94

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 95
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 95

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 96
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 96

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 97
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 97

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 98
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 98

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

<210> 100
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 100

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

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

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

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

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

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

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

<210> 101
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 101

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 102
<211> 106
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 102

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 103

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

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

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

35 40 45

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

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

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

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

<210> 104
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 104

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Arg Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 105
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 105

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 106
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 106

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 107

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 108

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 109
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 109

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 110
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Cys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 111

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 112
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 112

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 113
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 113

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 114

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 115
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 115

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 116
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 116

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 117

<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 117

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 118
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 118

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 119
<211> 325
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 119

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 120
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 120

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430

Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 121
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 121

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430

Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 122
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 122

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

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

20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys 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 Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

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

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 123

<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 123

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys 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 Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

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

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 124
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 124

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys 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 Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

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

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 125
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 125

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys 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 Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

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

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 126
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 126

Glu Ile Val Leu 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 Arg Arg Asp
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 Arg 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 Lys Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 127

<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 127

Glu Ile Val Leu 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 Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
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 Arg 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 Arg Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 128
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 128

Glu Ile Val Leu 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 Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg 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 Arg Ser Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 129
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 129

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
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 Glu 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 Arg Asp Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 130
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 130

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 131
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 131

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 132
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 132

Glu Ile Val Leu 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 Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 133

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp 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 Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 134
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 134

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 135
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 135

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 136

<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 136

Glu Ile Val Leu 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 Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 137
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 137

Glu Ile Val Leu 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 Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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 Glu 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 Glu 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> 138
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 138

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

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

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

Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 139
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 139

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

245 250 255

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 140
<211> 444
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 140

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

405 410 415

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 141
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 141

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 142
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 142

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 143
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 143

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn

20 25 30

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 144

<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 144

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 145
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 145

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 146
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 146

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 147
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 147

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 148
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 148

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu 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

Glu 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

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

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

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

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

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 149
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 149

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala

115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 150
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 150

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly

65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 151
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 151

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val

20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 152
<211> 212
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 152

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 153
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 153

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 154
<211> 212
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 154

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 155
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 155

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 156
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 156

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser

210

<210> 157
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 157

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser

165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 158
<211> 212
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 158

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn

115 120 125

Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 159
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 159

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

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

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly

65 70 75 80

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

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 160
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 160

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

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

20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu 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 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 161
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 161

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

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

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 162
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 162

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 163
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 163

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 164

Gln Gln Tyr Lys Arg Pro Leu Thr

1 5

<210> 165
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 165

Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
1 5 10

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 166

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 167
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 167

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Ala Val Val
1 5 10

<210> 168
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 168

Tyr Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 169
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 169

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

Gly

<210> 170
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 170

Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 171

Tyr Tyr Asp Ala Gln
1 5

<210> 172
<211> 17
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 172

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

Gly

<210> 173
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 173

Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 174

Tyr Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 175
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 175

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 176
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 176

Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 177

Tyr Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 178
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 178

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

Gly

<210> 179

<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 179

Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 180
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 180

Tyr Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 181
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 181

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

Gly

<210> 182
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 182

Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 183
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 183

His Tyr Asp Ile Gln
1 5

<210> 184
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 184

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

Gly

<210> 185
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 185

Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 186
<211> 11
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 186

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 187
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 187

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 188
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 188

Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 189
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 189

Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 190

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 190

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 191
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 191

Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 192
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 192

Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 193
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 193

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 194
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 194

Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 195
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 195

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 196
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 196

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 197
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 197

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 198
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 198

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 199
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 199

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 200
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 200

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 201
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 201

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 202
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 202

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 203
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 203

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 204
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 204

Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 205
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 205

Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr
1 5

<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 206

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 207
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 207

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 208
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 208

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 209
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 209

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 210

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 211

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 212

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 213
<211> 11
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 213

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 214
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 214

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 215
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 215

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 216
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 216

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 217

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 217

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
1 5

<210> 218
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 218

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 219
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 219

Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 220
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 220

Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr
1 5

<210> 221
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 221

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

<210> 222
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 222

Asp Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 223
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 223

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

Asp

<210> 224
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 224

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 225
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 225

Asn Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 226
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 226

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asn

<210> 227
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 227

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 228

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 228

Asp Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 229
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 229

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 230
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 230

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 231
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 231

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 232
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 232

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Gln

<210> 233
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 233

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 234
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 234

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 235
<211> 17
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 235

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 236
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 236

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 237
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 237

His Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 238
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 238

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 239
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 239

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 240
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 240

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 241
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 241

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 242

<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 242

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 243
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 243

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 244
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 244

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 245
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 245

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 246
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 246

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 247
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 247

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

Asp

<210> 248
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 248

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 249
<211> 5
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 249

His Asn Asn Met Asp
1 5

<210> 250
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 250

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

Asp

<210> 251
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 251

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 252
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 252

Gln Asn Asn Met Asp

1 5

<210> 253
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 253

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 254
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 254

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

<210> 255
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 255

Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
1 5 10

<210> 256
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 256

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 257
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 257

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 258
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 258

Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
1 5 10

<210> 259
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 259

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 260
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 260

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 261
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 261

Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val His
1 5 10

<210> 262
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 262

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 263
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 263

Gln Val Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 264

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

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 264

Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val His
1 5 10

<210> 265
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 265

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 266
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 266

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val
1 5

<210> 267
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 267

Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 268
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 268

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 269
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 269

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 270
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 270

Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val His
1 5 10

<210> 271
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 271

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 272

Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
1 5

<210> 273
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 273

Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 274
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 274

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 275
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 275

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 276
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 276

Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 277
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 277

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 278
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 278

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 279
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 279

Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 280
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 280

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 281
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 281

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 282
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 282

Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 283
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 283

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 284
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 284

Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
1 5

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 285

Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

<210> 286
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 286

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 287
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự được tổng hợp nhân tạo

<400> 287

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10