(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) **1-0022558**

(51)[7] **A61K 39/00**, 39/395

(13) **B**

(21) 1-2013-03660
(22) 20.04.2012
(86) PCT/US2012/034575 20.04.2012
(87) WO2012/145714 26.10.2012
(30) 61/478,449 22.04.2011 US
(45) 25.12.2019 381
(43) 25.04.2014 313
(73) Aptevo Research and Development LLC (US)
2401 Fourth Avenue, Suite 1050, Seattle, WA 98121, United States of America
(72) BLANKENSHIP, John W. (US), SEWELL, Elaine Todd (US), TAN, Philip (SG)
(74) Công ty TNHH Lê & Lê (LE & LE)

(54) PROTEIN LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN MÀNG ĐẶC HIỆU TUYẾN TIỀN LIỆT VÀ CHẾ PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các polypeptit chữa bệnh đặc hiệu đơn và đa đặc hiệu mà nhắm đích đặc hiệu đến các tế bào biểu hiện kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (prostate-specific membrane antigen, PSMA) và hữu ích để điều trị các rối loạn đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức, như ung thư tuyến tiền liệt (ví dụ, cắt kháng ung thư tuyến tiền liệt), tạo mạch có liên quan đến khối u, hoặc tăng sản lành tính tuyến tiền liệt (benign prostatic hyperplasia, BPH). Theo một phương án, polypeptit chữa bệnh đa đặc hiệu liên kết với cả các tế bào biểu hiện PSMA và phức thụ thể tế bào T ở các tế bào T để tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T phụ thuộc đích, tạo ra sự hoạt hóa và tăng sinh.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các protein chữa bệnh đặc hiệu đơn và đa đặc hiệu mà nhắm đích đặc hiệu đến các tế bào biểu hiện kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (prostate-specific membrane antigen, PSMA) và hữu ích để điều trị các rối loạn đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức, như, ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt (ví dụ, cắt kháng ung thư tuyến tiền liệt), tạo mạch có liên quan đến khối u, hoặc tăng sản lành tính tuyến tiền liệt (benign prostatic hyperplasia, BPH). Theo một phương án, protein chữa bệnh đa đặc hiệu liên kết với cả các tế bào biểu hiện PSMA và phức thụ thể tế bào T ở các tế bào T để tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T phụ thuộc đích, tạo ra sự hoạt hóa và tăng sinh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (prostate-specific membrane antigen, PSMA), cũng được biết như glutamat cacboxypeptidaza II và dipeptidaza 1 axit liên kết với N alpha được axetyl hóa, là glycoprotein đime xuyên màng typ II thuộc họ peptidaza M28 được mã hóa bởi gen FOLH1 (folat hydrolaza 1). Protein này hoạt động như glutamat cacboxypeptidaza trên các cơ chất lựa chọn khác nhau, bao gồm folat dinh dưỡng và neuropeptit N-axetyl-l-aspartyl-l-glutamat và được biểu hiện ở nhiều mô như mô tuyến tiền liệt, và ở mức ít hơn là mô ruột non, hệ thần kinh trung ương và hệ thần kinh ngoại biên và thận. Gen mã hóa cho PSMA được ghép nối theo cách khác nhau để tạo ra ít nhất ba biến thể. Đột biến gen này có thể liên quan đến sự hấp thụ kém các folat trong chế độ ăn ở ruột, dẫn đến các mức folat thấp ở máu và hậu quả là mức cao bất thường ở máu. Biểu hiện của protein này ở não có thể liên quan đến nhiều

tình trạng bệnh lý kết hợp với các tế bào thần kinh bị tiêu diệt do kích thích quá mức bởi glutamat.

PSMA đã được chứng minh rõ là kháng nguyên màng tế bào bị giới hạn ở mức cao, có liên quan đến ung thư tuyến tiền liệt. Ở các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, PSMA được biểu hiện lớn hơn 1000 lần so với ở biểu mô tuyến tiền liệt bình thường (Su et al., Cancer Res. 1995 44:1441-1443). Biểu hiện PSMA tăng cùng với tiến triển ung thư tuyến tiền liệt và cao nhất ở trường hợp di căn, các trường hợp bệnh khó chữa do hoóc môn, và các tổn thương độ cao (Israeli et al., Cancer Res. 1994, 54:1807-1811; Wright et al., Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations 1995 1:18-28; Wright et al., Urology 1996 48:326-332; Sweat et al., Urology 1998 52:637-640). Ngoài ra, PSMA được biểu hiện dư thừa trong hệ mạch thần kinh ở hàng loạt các khối u rắn khác, bao gồm ung thư bàng quang, lá lách, u mêlanin, ung thư phổi và ung thư thận, nhưng không ở hệ mạch thần kinh bình thường (Chang et al., Urology 2001 57:801-805; Divgi et al., Clin. Cancer Res. 1998 4:2729-3279).

PSMA thể hiện là đích nhắm quan trọng đối với các cách tiếp cận miễn dịch như vacxin hoặc liệu pháp trực tiếp với các kháng thể đơn dòng. Không giống như các phân tử kiểm soát tuyến tiền liệt khác mà là các protein tiết (PSA, phosphataza axit của tuyến tiền liệt), PSMA là protein màng trong bề mặt tế bào mà không được tiết, điều này làm cho nó là đích lý tưởng cho liệu pháp kháng thể. PROSTASCINT® (capromab pendetit) là kháng thể đơn dòng kháng PSMA đánh dấu với In^{111} ở chuột được chấp thuận bởi FDA để tạo hình ảnh và xác định giai đoạn ở các bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt mới được chẩn đoán và bị tái phát (Hinkle et al., Cancer 1998, 83:739-747). Tuy nhiên, capromab liên kết với epitop nội bào của PSMA, đòi hỏi sự nội nhập bào hoặc tiếp xúc với vùng trong của PSMA, do đó nó liên kết theo cách ưu tiên với các tế bào chết theo chương trình hoặc các tế bào chết hoại (Troyer et al., Urologic Oncology:

Seminars and Original Investigations 1995 1:29-37; Troyer et al., Prostate 1997 30:232-242). Kết quả là, capromab có thể không có lợi cho chữa bệnh (Liu et al., Cancer Res. 1997 57:3629-3634).

Các kháng thể đơn dòng khác mà nhắm đích vùng ngoài của PSMA được phát triển (ví dụ, J591, J415, J533, và E99) (Liu et al., Cancer Res. 1997 57:3629-3634). J591 đánh dấu phóng xạ được dùng trong các thử nghiệm lâm sàng hiện hành (Tagawa et al., Cancer 2010 116(S4):1075). Tuy nhiên, bằng chứng cho là PSMA có thể hoạt động như thụ thể gây ra sự nội nhập bào của phối tử giả định. PSMA bị nội nhập bào liên tục, và các kháng thể đặc hiệu PSMA có thể tạo ra và/hoặc làm tăng tốc độ nội nhập bào, mà sau đó chúng làm cho các kháng thể tích lũy trong các hạt cơ quan nội bào (Liu et al., Cancer Res. 1998 58:4055-4060). Trong khi các kháng thể nội nhập bào đặc hiệu PSMA có thể trợ giúp trong việc phát triển các chất chữa bệnh để phân sinh nhắm đích cho các chất độc, các thuốc, hoặc các chất đồng vị phóng xạ đến vùng trong ở các tế bào ung thư tuyến tiền liệt (Tagawa et al., Cancer 2010 116(S4):1075), các kháng thể đặc hiệu PSMA sử dụng các cơ chế phản ứng lại kích thích tự nhiên hoặc được biến đổi (ví dụ, tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (complement-dependent cytotoxicity, CDC), thực bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể kháng thể (antibody-dependent cell-mediated phagocytosis, ADCP), hoặc gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (re-directed T-cell cytotoxicity, RTCC) là vấn đề do kháng thể đặc hiệu PSMA có thể được nội nhập bào trước khi nó được nhận biết bởi các tế bào phản ứng lại kích thích.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất polypeptit liên kết kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, (a) vùng liên kết PSMA mà liên kết đặc hiệu với PSMA ở người, (b) vùng khớp nối, và (c) vùng cố định của globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA thích hợp bao gồm các vùng liên kết mà cạnh tranh với Fv chuỗi đơn (single chain Fv, scFv) có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:21 để liên kết với PSMA ở người. Theo các phương án nhất định, polypeptit liên kết PSMA có khả năng tạo ra đime với chuỗi polypeptit giống hệt thứ hai qua kết hợp giữa các vùng cố định của globulin miễn dịch và/hoặc các vùng khớp nối tương ứng.

Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA bao gồm (i) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa các CDR LCDR1, LCDR2, và LCDR3, và/hoặc (ii) vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa các CDR HCDR1 HCDR2, và HCDR3. Theo các biến đổi nhất định, LCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:17 và/hoặc HCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:11; theo một số phương án như vậy, LCDR1 và LCDR2 có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:15 và SEQ ID NO:16, tương ứng, và/hoặc HCDR1 và HCDR2 có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:9 và SEQ ID NO: 10, tương ứng. Theo biến đổi khác, (i) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:23; và/hoặc (ii) vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:25, hoặc SEQ ID NO:27. Một hoặc

cả hai vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng có thể được mô phỏng theo vùng này ở người.

Theo các biến đổi nhất định, vùng liên kết PSMA là Fv chuỗi đơn (scFv) chứa vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch được bộc lộ ở đây. Theo các phương án nhất định, các scFv liên kết với PSMA bao gồm, ví dụ, các scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:34, hoặc SEQ ID NO:35. Theo các phương án nhất định, vùng biến đổi ở chuỗi nặng của scFv là đầu cacboxyl đối với vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ (cũng được dùng để chỉ ở đây như "hướng VL-VH"). Theo một số phương án của scFv có hướng VL-VH, scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:21 , SEQ ID NO:30, hoặc SEQ ID NO:31. Vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của scFv có thể được nối với nhau bởi cầu nối peptit như, ví dụ, cầu nối peptit chứa trình tự axit amin $(Gly_4Ser)_n$, trong đó n = 1-5 (SEQ ID NO:165).

Theo một số phương án của polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây, vùng khớp nối nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng khớp nối của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD. Vùng khớp nối như vậy của globulin miễn dịch có thể là vùng khớp nối dạng tự nhiên hoặc bị biến đổi của globulin miễn dịch.

Theo các phương án khác của polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây, vùng cố định của globulin miễn dịch bao gồm các vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD. Theo phương án khác, vùng cố định

của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch và vùng cố định này không chứa vùng CH1 của globulin miễn dịch.

Theo các biến đổi nhất định, polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây bao gồm ít nhất một chức năng phản ứng lại kích thích được chọn từ tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Theo một số phương án, vùng khớp nối nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch và vùng cố định của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, hoặc lgG4. Theo phương án khác, vùng khớp nối của globulin miễn dịch nhận được từ vùng khớp nối của lgG1 và vùng cố định của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch IgGl.

Theo một số phương án, polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:70, hoặc SEQ ID NO:72.

Theo các phương án vẫn khác, polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây chứa thêm (d) đầu cacboxyl của vùng khớp nối thứ hai đối với vùng cố định của globulin miễn dịch, và (e) đầu cacboxyl của vùng liên kết thứ hai đối với vùng khớp nối thứ hai. Theo một số phương án, các vùng khớp nối thứ hai bao gồm các vùng nhận được từ vùng thân của lectin typ C II hoặc vùng khớp nối của globulin miễn dịch. Theo các biến đổi nhất định, vùng khớp nối thứ hai có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, hoặc SEQ ID NO:66.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit liên kết kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) mà liên kết đặc hiệu với PSMA ở người

và bao gồm vùng liên kết thứ nhất chứa (i) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa các CDR LCDR1, LCDR2, và LCDR3, và (ii) vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa các CDR HCDR1, HCDR2, và HCDR3; trong đó LCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 17 và/hoặc HCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:11. Theo một số phương án, LCDR1 và LCDR2 có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:15 và SEQ ID NO:16, tương ứng, và/hoặc HCDR1 và HCDR2 có các trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:9 và SEQ ID NO: 10, tương ứng. Theo một số biến đổi, LCDR1, LCDR2, và LCDR3 có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, và SEQ ID NO:17, tương ứng; và HCDR1, HCDR2, và HCDR3 có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 và SEQ ID NO:11, tương ứng. Theo một số biến đổi, (i) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:23; và/hoặc (ii) vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:25, hoặc SEQ ID NO:27. Theo các phương án nhất định, vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được mã hóa bởi trình tự axit nucleic mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit nucleic được thể hiện trong SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, hoặc SEQ ID NO:22; và/hoặc vùng biến đổi của chuỗi nặng được mã hóa bởi trình tự axit nucleic mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit nucleic được thể hiện trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:24, hoặc SEQ ID NO:26. Một hoặc cả hai vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng có thể được mô phỏng theo vùng này ở người. Theo một số phương án, polypeptit liên kết PSMA có khả năng tạo đime với chuỗi polypeptit giống hệt thứ hai.

Theo các phương án nhất định được bộc lộ ở đây, vùng liên kết thứ nhất là Fv chuỗi đơn (scFv) chứa vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Theo một số phương án, scFvs liên kết với PSMA bao gồm, ví dụ, các scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95% ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:34, hoặc SEQ ID NO:35. Theo các phương án nhất định, vùng biến đổi ở chuỗi nặng của scFv là đầu cacboxyl đối với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ ("hướng VL-VH"). Theo một số phương án của scFv có hướng VL-VH, scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:30, hoặc SEQ ID NO:31. Vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của scFv có thể được nối với nhau bởi cầu nối peptit như, ví dụ, cầu nối peptit chứa trình tự axit amin $(Gly_4Ser)_n$, trong đó n = 1-5 (SEQ ID NO: 165).

Theo các phương án nhất định, polypeptit liên kết PSMA chứa thêm vùng cố định của globulin miễn dịch. Ví dụ, theo một số biến đổi, vùng cố định của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD. Theo một số biến đổi, polypeptit liên kết PSMA chứa thêm một hoặc nhiều vùng khớp nối. Theo các phương án nhất định, vùng khớp nối có thể được nhận, ví dụ, từ vùng thân của lectin C typ II hoặc từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch.

Theo phương án khác, polypeptit liên kết PSMA chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, vùng liên kết thứ nhất, vùng khớp nối, và vùng cố định của globulin miễn dịch. Polypeptit liên kết PSMA ở dạng này có thể cũng được dùng để chỉ như phân tử SMIP đặc hiệu PSMA. Cấu hình chung của SMIP được cung cấp, ví dụ, trong công bố đơn paten US các No. 2003/0133939,

2003/0118592, và 2005/0136049, mà được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Theo phương án khác, hướng của polypeptit là đảo ngược sao cho polypeptit bao gồm, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, vùng cố định của globulin miễn dịch, vùng khớp nối và vùng liên kết thứ nhất. Theo hướng này, polypeptit có thể cũng được dùng để chỉ như phân tử PIMS đặc hiệu PSMA. Cấu hình chung của PIMS được cung cấp trong, ví dụ, công bố đơn paten US No. 2009/0148447, mà được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, polypeptit liên kết PSMA có vùng cố định của globulin miễn dịch và, tùy ý, vùng khớp nối như được bộc lộ ở đây có khả năng tạo đime với chuỗi polypeptit giống hệt thứ hai qua sự kết hợp giữa các vùng cố định và/hoặc các vùng khớp nối của globulin miễn dịch tương ứng.

Theo phương án khác, polypeptit liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai, như, ví dụ, Fv chuỗi đơn (scFv). Ví dụ, theo một số biến đổi, polypeptit liên kết PSMA bao gồm, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl hoặc theo thứ tự từ đầu cacboxyl đến đầu amino, (a) vùng liên kết thứ nhất, (b) vùng khớp nối thứ nhất, (c) vùng cố định của globulin miễn dịch, (d) vùng khớp nối thứ hai, và (e) vùng liên kết thứ hai.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất polypeptit liên kết PSMA như theo các phương án khác được bộc lộ ở đây và chứa vùng liên kết bổ sung, ví dụ, vùng liên kết thứ hai, trong đó vùng liên kết thứ hai này liên kết đặc hiệu với tế bào T. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết thứ hai liên kết đặc hiệu với phức thụ thể tế bào T (T cell receptor, TCR) hoặc thành phần của nó. Theo một số phương án, vùng liên kết thứ hai bao gồm vùng liên kết đặc hiệu với CD3, ví dụ, CD3ε. Theo các biến đổi nhất định, vùng liên kết thứ hai cạnh tranh với kháng thể đơn dòng CRIS-7 hoặc HuM291 để liên kết với CD3. Theo

một số biến đổi như vậy, vùng liên kết thứ hai chứa vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch nhận được từ kháng thể đơn dòng CRIS-7 hoặc HuM291. Ví dụ, theo các phương án nhất định, vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của vùng liên kết thứ hai là các vùng biến đổi được mô phỏng theo vùng biến đổi ở người chứa các CDR ở chuỗi nhẹ và các CDR ở chuỗi nặng tương ứng của kháng thể đơn dòng CRIS-7 hoặc HuM291. Theo phương án khác, vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của vùng liên kết thứ hai được chọn từ (a) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 139-245 của SEQ ID NO:47 và vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 1-121 của SEQ ID NO:47; và (b) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 634-740 của SEQ ID NO:78 và vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 496-616 của SEQ ID NO:78.

Theo các phương án nhất định của polypeptit liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai, vùng liên kết thứ hai này là Fv chuỗi đơn (scFv). Ví dụ, theo một số phương án của vùng liên kết thứ hai chứa vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng nhận được từ kháng thể đơn dòng CRIS-7, vùng liên kết thứ hai này là scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được chọn từ (i) trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 1-245 của SEQ ID NO:47, và (ii) trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 496-742 của SEQ ID NO:78. Theo một số phương án như vậy, polypeptit liên kết PSMA chứa

trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:162, hoặc SEQ ID NO:164.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất protein đime liên kết PSMA chứa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai, trong đó mỗi chuỗi polypeptit trong số các chuỗi polypeptit nói đến là polypeptit liên kết PSMA như theo phương án bất kỳ trong số các phương án được bộc lộ ở đây.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit liên kết PSMA chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, (a) vùng liên kết mà liên kết đặc hiệu với PSMA ở người, (b) vùng khớp nối, (c) vùng cố định của globulin miễn dịch, và (d) vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Vùng đime hóa dị loại có thể chứa, ví dụ, vùng CH1 của globulin miễn dịch hoặc vùng CL của globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA cạnh tranh với Fv chuỗi đơn (scFv) có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:21 để liên kết với PSMA ở người. Theo các phương án nhất định, các vùng liên kết PSMA bao gồm, ví dụ, các vùng liên kết PSMA được bộc lộ trên đây.

Theo một số phương án, vùng khớp nối nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng khớp nối của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD. Vùng khớp nối như vậy của globulin miễn dịch có thể là vùng khớp nối dạng tự nhiên hoặc dạng biến đổi của globulin miễn dịch. Theo các phương án khác, vùng cố định của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, hoặc kết hợp bất kỳ của nó; vùng CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3,

lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, IgM hoặc kết hợp bất kỳ của nó; hoặc các vùng CH3 và CH4 của globulin miễn dịch IgE, IgM hoặc kết hợp của nó.

Theo các phương án nhất định, polypeptit liên kết PSMA bao gồm ít nhất một chức năng phản ứng lại kích thích được chọn từ tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Theo một số phương án như vậy, vùng khớp nối nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch và vùng cố định của globulin miễn dịch chứa vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, hoặc lgG4. Theo các biến đổi cụ thể hơn, vùng khớp nối của globulin miễn dịch nhận được từ vùng khớp nối của lgG1 và vùng cố định của globulin miễn dịch chứa vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1.

Theo các phương án nhất định, polypeptit liên kết PSMA chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100%% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, hoặc SEQ ID NO:61.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất protein liên kết PSMA chứa hai chuỗi polypeptit không giống hệt nhau mà được kết hợp bởi các vùng đime hóa dị loại (ví dụ, các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch) để tạo ra dị đime. Theo một số phương án, protein dị đime liên kết PSMA bao gồm chuỗi polypeptit thứ nhất chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, (a) vùng liên kết thứ nhất mà liên kết đặc hiệu với PSMA, (b) vùng khớp nối thứ nhất, (c) vùng cố định thứ nhất của globulin miễn dịch, và (d) vùng đime hóa dị loại thứ nhất của globulin miễn dịch; và polypeptit chuỗi đơn thứ hai chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, (a') vùng khớp nối thứ hai, (b') vùng phụ thứ hai của globulin miễn dịch, và (c') vùng đime hóa dị loại thứ hai của globulin miễn dịch mà khác với vùng đime hóa dị loại thứ nhất của globulin miễn dịch

của chuỗi polypeptit thứ nhất, trong đó các vùng đime hóa dị loại thứ nhất và vùng đime hóa dị loại thứ hai của globulin miễn dịch kết hợp với nhau để tạo ra dị đime. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA cạnh tranh với Fv chuỗi đơn (scFv) mà có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:21 để liên kết với PSMA ở người. Theo các phương án nhất định, các vùng liên kết PSMA bao gồm, ví dụ, các vùng liên kết PSMA được bộc lộ trên đây.

Theo các phương án nhất định, các vùng đime hóa dị loại bao gồm các vùng chứa vùng CH1 của globulin miễn dịch hoặc vùng CL của globulin miễn dịch. Theo một số phương án như vậy, vùng đime hóa dị loại thứ nhất của globulin miễn dịch chứa vùng CH1 thứ nhất của globulin miễn dịch và vùng đime hóa dị loại thứ hai của globulin miễn dịch chứa vùng CL thứ nhất của globulin miễn dịch. Cách khác, theo các phương án khác, vùng đime hóa dị loại thứ nhất của globulin miễn dịch chứa vùng CL thứ nhất của globulin miễn dịch và vùng đime hóa dị loại thứ hai của globulin miễn dịch chứa vùng CH1 thứ nhất của globulin miễn dịch.

Theo một số phương án, ít nhất một trong số các vùng khớp nối thứ nhất và các vùng khớp nối thứ hai nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng khớp nối của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD. Vùng khớp nối như vậy của globulin miễn dịch có thể là vùng khớp nối dạng tự nhiên hoặc dạng biến đổi của globulin miễn dịch. Theo các phương án khác, ít nhất một trong số các vùng cố định thứ nhất và các vùng cố định thứ hai của globulin miễn dịch chứa vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch, như, ví dụ, vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, hoặc kết hợp bất kỳ của nó; vùng CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, IgM hoặc kết hợp bất kỳ của nó; hoặc các vùng CH3 và CH4 của globulin miễn dịch IgE, IgM hoặc kết hợp của nó.

Theo các biến đổi nhất định của protein dị đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, một hoặc cả hai chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai bao gồm ít nhất một chức năng phản ứng lại kích thích được chọn từ tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Theo một số phương án như vậy, mỗi vùng khớp nối trong số các vùng khớp nối thứ nhất và các vùng khớp nối thứ hai nhận được từ vùng khớp nối của globulin miễn dịch và mỗi vùng cố định trong số các vùng cố định thứ nhất và các vùng cố định thứ hai của globulin miễn dịch chứa vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1, lgG2, lgG3, hoặc lgG4. Theo các phương án nhất định, mỗi vùng khớp nối trong số các vùng khớp nối thứ nhất và các vùng khớp nối thứ hai nhận được từ vùng khớp nối của lgG1 và mỗi vùng cố định trong số vùng cố định thứ nhất và vùng cố định thứ hai của globulin miễn dịch chứa vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch lgG1.

Theo một số phương án của protein dị đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, chuỗi polypeptit thứ hai bao gồm thêm vùng liên kết thứ hai. Ví dụ, chuỗi polypeptit thứ hai có thể chứa thêm vùng đầu amino của liên kết thứ hai đối với vùng khớp nối thứ hai.

Theo các biến đổi nhất định, protein dị đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây có thể là đặc hiệu đơn (nghĩa là, đặc hiệu đơn đối với PSMA). Cách khác, theo các phương án khác, protein dị đime liên kết PSMA là đa đặc hiệu. Ví dụ, mỗi chuỗi polypeptit của dị đime có thể chứa các vùng liên kết khác nhau, ví dụ, chuỗi polypeptit thứ nhất chứa vùng liên kết PSMA và chuỗi polypeptit thứ hai chứa vùng liên kết thứ hai (ví dụ, đầu amino đối với vùng khớp nối thứ hai) mà đặc hiệu đối với kháng nguyên đích thứ hai khác với PSMA.

Theo một số phương án của protein dị đime đa đặc hiệu liên kết PSMA, vùng liên kết thứ hai liên kết đặc hiệu với với tế bào T. Theo các phương án nhất định, các vùng liên kết tế bào T bao gồm, ví dụ, các vùng liên kết bổ sung và các vùng liên kết thứ hai được bộc lộ trên đây. Theo các phương án nhất định của protein dị đime liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai mà liên kết đặc hiệu với với tế bào T, ví dụ, (a) chuỗi polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:46 và chuỗi polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 47; (b) chuỗi polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 58 và chuỗi polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 57; (c) chuỗi polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 59 và chuỗi polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 57; (d) chuỗi polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 99%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 60 và chuỗi polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 47; hoặc (e) chuỗi polypeptit thứ nhất chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 61 và chuỗi polypeptit thứ hai chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 99%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 47.

Theo các phương án nhất định của protein đime liên kết PSMA hoặc protein dị đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, protein liên kết PSMA thể hiện chu kỳ bán phân rã tăng ở huyết thanh, sự nội nhập bào bị giảm bởi tế bào biểu hiện PSMA, và/hoặc tăng thời gian tồn tại trên bề mặt tế bào biểu hiện PSMA khi so với kháng thể đơn dòng 107-1A4 ở chuột.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA. Ví dụ, theo các biến đổi nhất định, axit nucleic chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NQ:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:32, SEQ ID O:33, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41. SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID: NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ D NO:56, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:79; SEQ ID NO:81, SEQ ID NQ:83, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO: 161, hoặc SEQ ID NO:163.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất vectơ biểu hiện để biểu hiện polypeptit hoặc protein liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây trong tế bào chủ tái tổ hợp. Theo một số phương án, vectơ biểu hiện chứa đoạn axit nucleic mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA, trong đó đoạn axit nucleic này được nối theo cách có thể hoạt động được với các trình tự điều khiển thích hợp để biểu hiện đoạn axit nucleic trong tế bào chủ. Theo một số phương án, đoạn axit nucleic chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41 , SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID:NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:77, SEQ

ID NO:79, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO:161, hoặc SEQ ID NO:163. Theo các phương án khác, vectơ biểu hiện chứa đơn vị biểu hiện thứ nhất và đơn vị biểu hiện thứ hai, trong đó đơn vị biểu hiện thứ nhất và đơn vị biểu hiện thứ hai chứa đoạn axit nucleic thứ nhất và đoạn axit nucleic thứ hai tương ứng mã hóa cho chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai của protein dị đime liên kết PSMA như theo các phương án nhất định được bộc lộ ở đây, và trong đó đoạn axit nucleic thứ nhất và đoạn axit nucleic thứ hai được nối theo cách có thể hoạt động được với các trình tự điều khiển thích hợp để biểu hiện các đoạn axit nucleic trong tế bào chủ. Theo các biến đổi nhất định, (a) đoạn axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:44 và đoạn axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:45; (b) đoạn axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:53 và đoạn axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:52; (c) đoạn axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:54 và đoạn axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:52; (d) đoạn axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:55 và đoạn axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:45; hoặc (e) đoạn axit nucleic thứ nhất chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:56 và đoạn axit nucleic thứ hai chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO:45.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất tế bào chủ tái tổ hợp chứa vectơ biểu hiện được bộc lộ ở đây.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra polypeptit hoặc protein liên kết PSMA. Ví dụ, theo một số phương án, phương pháp này tạo ra polypeptit liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây. Theo các phương án nhất định, phương pháp nói chung bao gồm nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp chứa

vectơ biểu hiện, trong đó vectơ biểu hiện bao gồm đoạn axit nucleic mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA và được nối theo cách có thể hoạt động được với các trình tự điều khiển thích hợp để biểu hiện đoạn axit nucleic ở tế bào chủ, và trong đó quá trình nuôi cấy là ở các điều kiện mà nhờ đó đoạn axit nucleic được biểu hiện, bằng cách đó tạo ra polypeptit liên kết PSMA. Theo các biến đổi nhất định, đoạn axit nucleic chứa trình tự nucleotit được thể hiện trong SEQ ID NO NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ IDNO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:53, SEQ ID: NO:54, SEQ ID: NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:71 , SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:161, hoặc SEQ ID NO: 163. Theo các phương án nhất định, phương pháp bao gồm thêm quá trình thu lại polypeptit liên kết PSMA.

Theo một số phương án, phương pháp tạo ra protein đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây. Theo các biến đổi nhất định, đoạn axit nucleic trong vectơ biểu hiện mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, và quá trình nuôi cấy là ở các điều kiện nhờ đó đoạn axit nucleic này được biểu hiện và polypeptit liên kết PSMA mã hóa tạo ra protein đime liên kết PSMA. Phương pháp này có thể bao gồm thêm quá trình thu lại protein đime liên kết PSMA.

Theo các phương án khác, phương pháp tạo ra protein dị đime liên kết PSMA được bộc lộ ở đây. Theo các phương án nhất định, phương pháp nói chung bao gồm quá trình nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp chứa đơn vị biểu hiện thứ nhất và đơn vị biểu hiện thứ hai, trong đó đơn vị biểu hiện thứ nhất và đơn vị biểu hiện thứ hai chứa đoạn axit nucleic thứ nhất và đoạn axit nucleic thứ hai

tương ứng mã hóa cho chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai của protein dị đime liên kết PSMA như được trình bày ở đây, trong đó đoạn axit nucleic thứ nhất và đoạn axit nucleic thứ hai được nối theo cách có thể hoạt động được với các trình tự điều khiển thích hợp để biểu hiện các đoạn axit nucleic này trong tế bào chủ, và trong đó quá trình nuôi cấy là ở các điều kiện nhờ đó đoạn axit nucleic thứ nhất và đoạn axit nucleic thứ hai được biểu hiện và các chuỗi polypeptit mã hóa tạo ra protein dị đime liên kết PSMA. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm thêm quá trình thu lại protein dị đime liên kết PSMA.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa polypeptit hoặc protein bất kỳ trong số các polypeptit hoặc các protein liên kết PSMA như được trình bày ở đây và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) kháng tế bào biểu hiện PSMA. Ví dụ, theo một số phương án, phương pháp tạo ra ADCC hoặc CDC kháng tế bào biểu hiện PSMA bao gồm tạo sự tiếp xúc tế bào biểu hiện PSMA với protein đime liên kết PSMA chứa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai, trong đó mỗi chuỗi polypeptit trong số các chuỗi polypeptit là polypeptit liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, và trong đó sự tiếp xúc là ở các điều kiện nhờ đó ADCC hoặc CDC kháng tế bào biểu hiện PSMA được tạo ra. Theo các phương án khác, phương pháp tạo ra ADCC hoặc CDC kháng tế bào biểu hiện PSMA bao gồm tạo ra sự tiếp xúc tế bào này với protein dị đime liên kết PSMA như ở đoạn [0031], trong đó sự tiếp xúc là ở các điều kiện nhờ đó ADCC hoặc CDC kháng tế bào biểu hiện PSMA được tạo ra.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (RTCC) kháng tế bào biểu hiện PSMA. Theo một số biến đổi, phương pháp tạo ra RTCC kháng tế bào biểu hiện PSMA bao gồm tạo ra sự tiếp xúc tế bào biểu hiện PSMA với protein đime liên kết PSMA chứa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai, trong đó mỗi chuỗi polypeptit trong số các chuỗi polypeptit nói đến là polypeptit liên kết PSMA được bộc lộ ở đây, và trong đó sự tiếp xúc là ở các điều kiện nhờ đó RTCC kháng tế bào biểu hiện PSMA được tạo ra. Theo các phương án khác, phương pháp tạo ra RTCC kháng tế bào biểu hiện PSMA bao gồm tạo ra sự tiếp xúc tế bào này với protein dị đime liên kết PSMA như được bộc lộ ở đây, trong đó sự tiếp xúc là ở các điều kiện nhờ đó RTCC kháng tế bào biểu hiện PSMA được tạo ra.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn ở đối tượng, trong đó rối loạn được đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức. Theo một số phương án, phương pháp bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu chữa bệnh của protein đime liên kết PSMA được bộc lộ trên đây. Theo một số phương án như vậy, chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai của protein đime liên kết PSMA là polypeptit liên kết PSMA, ví dụ, như được bộc lộ trên đây, và protein đime liên kết PSMA tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (RTCC) ở đối tượng. Theo các biến đổi khác, phương pháp bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu chữa bệnh của protein dị đime liên kết PSMA, ví dụ, như được bộc lộ trên đây. Theo một số biến đổi, protein dị đime liên kết PSMA là protein như được bộc lộ trên đây, và protein dị đime liên kết PSMA tạo ra RTCC ở đối tượng. Theo các phương án nhất định của các phương pháp được bộc lộ này, rối loạn là ung thư như, ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt (ví dụ, cắt kháng ung thư tuyến tiền liệt), ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư dạ dày, carcinoma tế bào sáng thận, ung thư bàng quang, hoặc ung thư phổi. Theo một số phương án, rối loạn là rối loạn tuyến tiền liệt như, ví dụ, ung thư

tuyến tiền liệt hoặc tăng sản lành tính tuyến tiền liệt. Theo các biến đổi khác, rối loạn là rối loạn tạo mạch. Rối loạn tạo mạch được điều trị có thể là, ví dụ, ung thư được đặc trưng bởi sự phát triển khối u rắn như, ví dụ, carcinoma tế bào sáng thận, ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư bàng quang, và ung thư phổi.

Các phương án này và các phương án khác và/hoặc các khía cạnh khác của sáng chế sẽ trở nên hiển nhiên dựa trên việc tham khảo phần mô tả chi tiết sau đây của sáng chế và các hình vẽ kèm theo.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị minh họa các kết quả nghiên cứu liên kết được sử dụng để so sánh kháng thể gốc 107-1A4 ở chuột (TSC045) với TSC085, TSC092 và TSC122 ở các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PSMA(+) (LNCaP) và PSMA(-) (DU-145).

Fig.2A là đồ thị minh họa các kết quả nghiên cứu liên kết được sử dụng để so sánh TSC188 và TSC189 được mô phỏng theo người ở các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PSMA(+) (C4-2) và PSMA(-) (DU-145).

Fig.2B là đồ thị minh họa các kết quả nghiên cứu liên kết được sử dụng để so sánh liên kết của phân tử SCORPION TSC194 và TSC199 được mô phỏng theo người với liên kết của phân tử SMIP TSC188 và TSC189 gốc được mô phỏng theo người và phân tử chắn TSC122 thể khảm ở các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PSMA(+) (C4-2) và PSMA(-) (DU-145).

Fig.3 là đồ thị minh họa các kết quả thí nghiệm nội nhập bào so sánh kháng thể gốc 107-1A4 ở chuột với các protein liên kết PSMA dựa trên các giá đỡ phân tử chắn và các giá đỡ SMIP.

Fig.4 là đồ thị minh họa hoạt tính tiềm năng gây độc tế bào phụ thuộc đích trong suốt 24 giờ được quan sát thấy đối với phân tử chắn TSC122 thể khảm ở các nồng độ giảm dần (300, 100, 30, 10 và 0pM) khi có mặt các tế bào T ở máu của người từ hai nguồn cho khác nhau (được đánh dấu như AG và W).

Fig.5 là đồ thị minh họa hoạt tính gây độc tế bào của TSC200, TSC202, TSC204 cùng với phân tử chắn TSC122 gốc thể khảm.

Fig.6 là đồ thị minh họa tính gây độc tế bào do tế bào T được tạo ra bởi các phân tử SCORPION 107-1A4 được mô phỏng theo người (TSC194, TSC199, TSC212, TSC213) so với phân tử chắn TSC122 thể khảm.

Fig.7A và Fig.7B là các đồ thị minh họa sự tăng sinh phụ thuộc đích của các tế bào T CD4+ (Fig.7A) và các tế bào T CD8+ (Fig.7B) được tạo ra bởi các phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA (TSC194, TSC199, TSC202 và TSC122) phản ứng với các tế bào C4-2.

Các hình vẽ từ Fig.8A đến Fig.8C là các đồ thị minh họa các nghiên cứu liên kết cạnh tranh của mAbs J591 và J415 với mAb 107-1A4 và các phân tử SMIP 107-1A4 thể khảm được mô phỏng theo người với PSMA ở các tế bào C4-2. Cụ thể là, Fig.8A thể hiện các kết quả thử nghiệm liên kết cạnh tranh với PSMA ở các tế bào C4-2 để xác định nếu kháng thể J591 được mô phỏng theo người (Hu591) cạnh tranh với liên kết của các kháng thể 107-1A4, J591 hoặc J415 ở chuột; Fig.8B thể hiện các kết quả thử nghiệm liên kết cạnh tranh với PSMA ở các tế bào C4-2 để xác định nếu ba kháng thể ở chuột cạnh tranh với liên kết của phân tử SMIP 107-1A4 thể khảm (TSC085); và Fig.8C thể hiện các kết quả thử nghiệm liên kết cạnh tranh với PSMA ở các tế bào C4-2 để xác định nếu ba kháng thể ở chuột cạnh tranh với liên kết của phân tử SMIP 107-1A4 được mô phỏng theo người (TSC189).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất các polypeptit và các protein liên kết PSMA mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA). Việc dùng lượng hữu hiệu chữa bệnh của polypeptit hoặc protein liên kết PSMA theo sáng chế cho bệnh nhân có nhu cầu chữa bệnh là hữu ích để điều trị các rối loạn nhất định liên quan đến PSMA biểu hiện quá mức, bao gồm các loại ung thư nhất định và các rối loạn tuyến tiền liệt. Theo một phương án, polypeptit hoặc protein liên kết PSMA liên kết đồng thời tế bào đích biểu hiện PSMA quá mức và tế bào T, bằng cách đó "liên kết chéo" với tế bào đích biểu hiện PSMA quá mức và tế bào T. Liên kết của cả hai vùng với đích của chúng sản sinh ra tính gây độc tế bào tiềm năng phụ thuộc đích do tế bào T định hướng lại (RTCC) (ví dụ, tạo ra tính gây độc tế bào phụ thuộc đích do tế bào T, hoạt hóa tế bào T và tăng sinh tế bào T).

Tiêu đề các mục được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích tổ chức và không được hiểu như giới hạn vấn đề của đối tượng được mô tả. Tất cả các tài liệu, hoặc các phần tài liệu, được trích dẫn ở đây, bao gồm nhưng không chỉ bị giới hạn ở các paten, các đơn paten, các bài báo, các sách, và các giáo trình, do đó được đưa hoàn toàn rõ ràng bằng cách viện dẫn đối với mục đích bất kỳ. Trong trường hợp mà một hoặc nhiều trong số các tài liệu hoặc các phần tài liệu được đưa vào định nghĩa thuật ngữ mà mâu thuẫn với định nghĩa thuật ngữ trong đơn, thì định nghĩa xuất hiện trong đơn này có quyền điều khiển.

Trong phần mô tả này, phạm vi nồng độ, phạm vi phần trăm, phạm vi tỷ lệ, hoặc phạm vi số nguyên bất kỳ được hiểu là bao gồm giá trị số nguyên bất kỳ trong phạm vi trích dẫn và, khi thích hợp, các phân số của chúng (như một phần mười và một phần trăm của số nguyên), nếu không được biểu thị theo cách khác. Như được sử dụng ở đây, "khoảng" nghĩa là ± 20% phạm vi, giá trị, hoặc

cấu trúc được biểu thị, nếu không được biểu thị theo cách khác. Nó được hiểu là các thuật ngữ "một" và "một" như được sử dụng ở đây để chỉ "một hoặc nhiều" thành phần đếm được nếu không được biểu thị theo cách khác. Sử dụng thay thế (ví dụ, "hoặc") được hiểu nghĩa là một, cả hai, hoặc kết hợp bất kỳ của nó theo phương án thay thế. Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "bao gồm" và "chứa" được sử dụng đồng nghĩa. Ngoài ra, được hiểu là các polypeptit chứa các thành phần kết hợp khác nhau (ví dụ, các vùng hoặc các miền) và thành phần thay thế mô tả ở đây, bộc lộ theo đơn này đến mức giống nhau như là mỗi polypeptit được nêu riêng biệt. Vì vậy, việc chọn các thành phần cụ thể của các polypeptit riêng là trong phạm vi bộc lộ này.

Các định nghĩa

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vùng liên kết" hoặc "miền liên kết" dùng để chỉ vùng, miền, phần, hoặc vị trí trong protein, polypeptit, oligopeptit, hoặc peptit mà có khả năng nhận biết đặc hiệu và liên kết với phân tử đích, như kháng nguyên, phối tử, thụ thể, cơ chất, hoặc chất ức chế (ví dụ,CD3, PSMA). Các vùng liên kết làm ví dụ bao gồm miền biến đổi của kháng thể chuỗi đơn (ví dụ, vùng của kháng thể, sFv, scFv, scFab), các thụ thể vùng protein màng ngoài tế bào, và các phối tử (ví dụ, các xytokin, các chemokin). Theo các phương án nhất định, vùng liên kết chứa hoặc gồm có vị trí liên kết kháng nguyên (ví dụ, chứa trình tự biến đổi của chuỗi nặng và trình tự biến đổi của chuỗi nhẹ hoặc ba miền xác định bổ sung của chuỗi nhẹ (complementary determining regions, CDRs) và ba CDR ở chuỗi nặng của kháng thể được đặt trong các miền khung hoạt động lựa chọn (framework regions, FRs) (ví dụ, các FR ở người chứa tùy ý một hoặc nhiều axit amin thế). Một loạt các thử nghiệm đã được biết để nhận biết các vùng liên kết theo sáng chế mà liên kết đặc hiệu với đích cụ thể, bao gồm thấm tách Western, ELISA, sàng lọc thư viện biểu hiện thể thực khuẩn, và phân tích tương tác BIACORE®. Như được sử dụng ở đây, polypeptit liên kết

PSMA có thể có "vùng liên kết thứ nhất" và, tùy ý, "vùng liên kết thứ hai". Theo các phương án nhất định, "vùng liên kết thứ nhất" là vùng liên kết PSMA và, phụ thuộc vào dạng polypeptit cụ thể (ví dụ, SMIP hoặc PIMS), có thể nằm ở đầu amino hoặc đầu cacboxyl. Theo các phương án nhất định chứa cả vùng liên kết thứ nhất và vùng liên kết thứ hai, vùng liên kết thứ hai là vùng liên kết tế bào T như scFv nhận được từ kháng thể đơn dòng ở chuột (ví dụ,CRIS-7) mà liên kết với kháng nguyên bề mặt tế bào T (ví dụ, CD3). Theo các phương án khác, vùng liên kết thứ hai là vùng liên kết PSMA thứ hai. Theo các phương án khác nữa, vùng liên kết thứ hai là vùng liên kết khác vùng liên kết PSMA hoặc vùng liên kết với tế bào T.

Vùng liên kết "liên kết đặc hiệu" với đích nếu nó liên kết đích với ái lực hoặc Ka (nghĩa là, hằng số cân bằng kết hợp của tương tác liên kết cụ thể có đơn vị là 1/M) bằng hoặc lớn hơn 10^5 M^{-1}, trong khi liên kết không đặc hiệu với các thành phần khác có mặt trong mẫu thử nghiệm. Các vùng liên kết có thể được phân loại như các vùng liên kết có "ái lực cao" và các vùng liên kết có "ái lực thấp". Các vùng liên kết có "ái lực cao" để chỉ các vùng liên kết có Ka ít nhất là 10^7 M^{-1}, ít nhất là 10^8 M^{-1}, ít nhất là 10^9 M^{-1}, ít nhất là 10^{10} M^{-1}, ít nhất là 10^{11} M^{-1}, ít nhất là 10^{12} M^{-1}, hoặc ít nhất là 10^{13} M^{-1}. Các vùng liên kết có "ái lực thấp" để chỉ các vùng liên kết có Ka đến ít nhất là 10^7 M^{-1}, đến ít nhất là 10^6 M^{-1}, đến ít nhất là 10^5 M^{-1}. Cách khác, ái lực có thể được định nghĩa như hằng số cân bằng phân ly (Kd) của tương tác liên kết cụ thể có các đơn vị M (ví dụ, ít nhất là 10^{-5} M đến ít nhất là 10^{-13} M). Các ái lực của vùng liên kết ở các polypeptit và các polypeptit chuỗi đơn theo sáng chế có thể được dễ dàng xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông dụng (xem, ví dụ, Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660; và Paten US các No. 5.283.173, 5.468.614, hoặc tương đương).

"CD3" được biết trong nghiên cứu như phức đa protein có sáu chuỗi (xem, ví dụ, Abbas and Lichtman, 2003; Janeway *et al.*, p. 172 and 178, 1999), mà là các tiểu đơn vị của phức thụ thể ở tế bào T. Ở động vật có vú, các tiểu đơn vị CD3 của phức thụ thể ở tế bào T là chuỗi CD3γ, chuỗi CD3δ, hai chuỗi CD3ε, và đồng đime của các chuỗi CD3ζ. Các chuỗi CD3γ, CD3δ, và CD3ε là các protein có liên quan chặt đến bề mặt tế bào của siêu họ globulin miễn dịch chứa vùng globulin miễn dịch đơn. Các miền xuyên màng của chuỗi CD3γ, CD3δ, và CD3ε tích điện âm, đặc điểm mà cho phép các chuỗi này kết hợp với các chuỗi thụ thể tế bào T tích điện dương. Mỗi đuôi trong các đuôi nội bào của chuỗi CD3γ, CD3δ, và CD3ε chứa môtip bảo thủ đơn được biết như môtip hoạt hóa thụ thể miễn dịch dựa trên tyrozin (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) hoặc ITAM, trong khi mỗi chuỗi CD3ζ có ba môtip. Được cho là các ITAM đóng vai trò quan trọng trong khả năng truyền tín hiệu của phức TCR. CD3 khi được sử dụng theo sáng chế có thể là từ các loài động vật khác nhau, bao gồm người, khỉ, chuột nhắt, chuột, hoặc các động vật có vú khác.

Như được sử dụng ở đây, "thế bảo toàn" được nhận biết trong nghiên cứu như axit amin thế với một axit amin mà có các tính chất tương tự. Các sự thế bảo toàn làm ví dụ được biết rõ trong nghiên cứu (xem, ví dụ, WO 97/09433, trang 10, được công bố 13 tháng 3, 1997; Lehninger, Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY: NY (1975), pp.71 -77; Lewin, Genes IV, Oxford University Press, NY và Cell Press, Cambridge, MA (1990), p. 8). Theo các phương án nhất định, thế bảo toàn bao gồm thế loxin với serin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dẫn xuất" dùng để chỉ sự cải biến của một hoặc nhiều gốc axit amin trong peptit bằng hóa học hoặc sinh học, có hoặc không có enzym, ví dụ, bằng glycosyl hóa, alkyl hóa, axyl hóa, tạo este, hoặc tạo amit.

Như được sử dụng ở đây, polypeptit hoặc trình tự axit amin "nhận được từ" polypeptit hoặc protein được chọn dùng để chỉ nguồn gốc của polypeptit. Theo các phương án nhất định, polypeptit hoặc trình tự axit amin mà nhận được từ trình tự cụ thể (một vài trường hợp được dùng để chỉ như " trình tự khởi đầu" hoặc " trình tự gốc" hoặc trình tự "thuộc gốc") có trình tự axit amin mà về cơ bản giống hệt với trình tự khởi đầu hoặc một phần của nó, trong đó phần này chứa ít nhất là 10-20 axit amin, ít nhất là 20-30 axit amin, hoặc ít nhất là 30-50 axit amin, hoặc ít nhất là 50-150 axit amin, hoặc trình tự có thể được nhận biết theo cách khác theo một trong số kỹ năng thông thường trong nghiên cứu khi có trình tự gốc của nó thuộc trình tự khởi đầu.

Các polypeptit nhận được từ polypeptit khác có thể có một hoặc nhiều đột biến so với polypeptit khởi đầu, ví dụ, một hoặc nhiều gốc axit amin mà được thế với gốc axit amin khác hoặc polypeptit có một hoặc nhiều gốc axit amin chèn thêm hoặc cắt bỏ. Polypeptit có thể chứa trình tự axit amin không tồn tại trong tự nhiên. Những biến đổi như vậy cần có ít hơn 100% trình tự giống hệt hoặc tương tự với polypeptit khởi đầu. Theo một phương án, biến thể sẽ có trình tự axit amin từ khoảng 60% đến ít hơn 100% trình tự axit amin giống hệt hoặc tương tự với trình tự axit amin của polypeptit khởi đầu. Theo phương án khác, biến thể sẽ có trình tự axit amin từ khoảng 75% đến ít hơn 100%, từ khoảng 80% đến ít hơn 100%, từ khoảng 85% đến ít hơn 100%, từ khoảng 90% đến ít hơn 100%, từ khoảng 95% đến ít hơn 100% trình tự axit amin giống hệt hoặc tương tự với trình tự axit amin của polypeptit khởi đầu.

Như được sử dụng ở đây, nếu không được đề xuất theo cách khác, vị trí của gốc axit amin trong vùng biến đổi của phân tử globulin miễn dịch được đánh số theo quy ước đánh số Kabat (Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. Bethesda, MD: Public Health Service, National Institutes of Health (1991)), và vị trí của gốc axit amin trong vùng cố định của

phân tử globulin miễn dịch được đánh số theo danh pháp EU (Ward et al., 1995 Therap. Immunol. 2:77-94).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "đime" dùng để chỉ thực thể sinh học mà gồm có hai tiểu đơn vị kết hợp với nhau qua một hoặc nhiều dạng lực nội phân tử, bao gồm các liên kết cộng hóa trị (ví dụ, các liên kết đisunfua) và các tương tác khác (ví dụ, các tương tác tĩnh điện, các cầu nối của muối, liên kết hyđro, và các tương tác kỵ nước), và bền vững ở các điều kiện thích hợp (ví dụ, ở các điều kiện sinh lý, trong dung dịch nước thích hợp để biểu hiện, tinh chế, và/hoặc bảo quản các protein tái tổ hợp, hoặc ở các điều kiện điện di không biến tính và/hoặc điện di không có chất khử). "Dị đime" hoặc " protein dị đime," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ đime được tạo từ hai polypeptit khác nhau. Dị đime không bao gồm kháng thể được tạo từ bốn polypeptit (nghĩa là, hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng). "Đồng đime" hoặc "protein đồng đime," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ đime được tạo từ hai polypeptit giống hệt.

Như được sử dụng ở đây, "vùng khớp nối" hoặc "khớp nối" dùng để chỉ polypeptit nhận được từ (a) miền giữa vùng của protein xuyên màng (ví dụ, protein xuyên màng typ I); hoặc (b) vùng thân của lectin typ C II. Ví dụ, vùng khớp nối có thể được nhận được từ miền giữa vùng của thành viên trong siêu họ globulin miễn dịch; các vùng khớp nối thích hợp trong lớp cụ thể này bao gồm (i) các vùng khớp nối của globulin miễn dịch (cấu thành, ví dụ, (các) miền cao hơn và/hoặc miền lõi) hoặc các biến thể chức năng của chúng, bao gồm các khớp nối dạng tự nhiên và bị biến đổi của globulin miễn dịch, và (ii) các miền (hoặc các biến thể chức năng của chúng) mà nối với vùng tương tự V của globulin miễn dịch hoặc vùng tương tự C của globulin miễn dịch.

"Vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch" dùng để chỉ các trình tự axit amin của khớp nối cao hơn và khớp nối ở giữa tồn tại tự nhiên giữa

và nối các vùng CH1 và CH2 (đối với IgG, IgA, và IgD) hoặc giữa và nối các vùng CH1 và CH3 (đối với IgE và IgM) được thấy ở chuỗi nặng của kháng thể. Theo các phương án nhất định, trình tự vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch là trình tự này ở người, và có thể chứa vùng khớp nối IgG ở người.

"Vùng khớp nối dạng tự nhiên bị biến đổi của globulin miễn dịch" hoặc "vùng khớp nối bị biến đổi của globulin miễn dịch " dùng để chỉ (a) vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch có đến 30% axit amin thay đổi (ví dụ, đến 25%, 20%, 15%, 10%, hoặc 5% axit amin thế hoặc bị cắt bỏ), hoặc (b) phần trong vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch mà có độ dài khoảng 5 axit amin (ví dụ, khoảng 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20 axit amin) cho đến khoảng 120 axit amin (ví dụ, có độ dài khoảng 10 đến khoảng 40 axit amin hoặc khoảng 15 đến khoảng 30 axit amin hoặc khoảng 15 đến khoảng 20 axit amin hoặc khoảng 20 đến khoảng 25 axit amin), cho đến khoảng 30% axit amin thay đổi (ví dụ, cho đến khoảng 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, hoặc 1% axit amin thế hoặc bị cắt bỏ hoặc kết hợp của nó), và có vùng lõi khớp nối của IgG như được bộc lộ trong PCT/US2010/62436 và PCT/US2010/62404.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "được mô phỏng theo người" dùng để chỉ quá trình tạo ra kháng thể hoặc các protein và polypeptit liên kết globulin miễn dịch nhận được từ loài không phải người (ví dụ, chuột nhắt hoặc chuột) có tính gây tạo miễn dịch kém đối với người, trong khi vẫn giữ các tính chất liên kết với kháng nguyên của kháng thể gốc, bằng cách sử dụng các kỹ thuật công nghệ di truyền. Theo một số phương án, (các) vùng liên kết của kháng thể hoặc các protein và polypeptit liên kết globulin miễn dịch (ví dụ, vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng, Fab, scFv) là được mô phỏng theo người. Các vùng liên kết không phải của người có thể được mô phỏng theo

vùng này của người bằng cách sử dụng các kỹ thuật được biết như ghép CDR (Jones et al., Nature 321 :522 (1986)) và các biến thể của nó, bao gồm "phục hồi hình dạng" (Verhoeyen, et al., 1988 Science 239:1534-1536; Riechmann, et al., 1988 Nature 332:323-337; Tempest, et al., Bio/Technol 1991 9:266-271), "tạo kháng thể được mô phỏng theo kháng thể của người bằng cách chuyển đổi CDR" (Queen, et al., 1989 Proc Natl Acad Sci USA 86:10029-10033; Co, et al., 1991 Proc Natl Acad Sci USA 88:2869-2873; Co, et al., 1992 J Immunol 148:1149-1154), và "che đậy" (Mark, et al., "Derivation of therapeutically active humanized and veneered anti-CD18 antibodies. In: Metcalf BW, Dalton BJ, eds. Cellular adhesion: molecular definition to therapeutic potential. New York: Plenum Press, 1994: 291-312). Nếu nhận được từ nguồn không phải của người, các miền khác của kháng thể hoặc các protein và polypeptit liên kết globulin miễn dịch, như các vùng trong vùng khớp nối và vùng cố định, có thể cũng được mô phỏng theo người.

"Vùng đime hóa của globulin miễn dịch" hoặc "vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ vùng globulin miễn dịch trong chuỗi polypeptit mà tương tác hoặc kết hợp theo cách ưu tiên với vùng globulin miễn dịch khác của chuỗi polypeptit thứ hai, trong đó tương tác của các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch khác nhau về cơ bản góp phần hoặc thúc đẩy có hiệu quả quá trình đime hóa dị loại của chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai (nghĩa là, tạo thành đime giữa hai chuỗi polypeptit khác nhau, mà cũng được dùng để chỉ như "dị đime"). Các tương tác giữa các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch "về cơ bản góp phần hoặc thúc đẩy có hiệu quả" đime hóa dị loại của chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai nếu nó làm giảm rõ rệt có tính chất thống kê trong việc đime hóa giữa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai khi không có mặt vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit thứ nhất và/hoặc vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit

thứ hai. Theo các phương án nhất định, khi chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai cùng được biểu hiện, ít nhất là 60%, ít nhất khoảng 60% đến khoảng 70%, ít nhất khoảng 70% đến khoảng 80%, ít nhất 80% đến khoảng 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai tạo ra dị đime với nhau. Các vùng đime hóa dị loại đại diện của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH1 của globulin miễn dịch, vùng CL của globulin miễn dịch (ví dụ, lớp Cκ hoặc Cλ), hoặc các dẫn xuất của nó, chứa các vùng CH1 và CL dạng tự nhiên của globulin miễn dịch và các vùng CH1 và CL bị biến đổi (hoặc đột biến) của globulin miễn dịch, như được cung cấp ở đó.

"Vùng cố định của globulin miễn dịch" hoặc "vùng cố định" là thuật ngữ được định nghĩa ở đây để chỉ trình tự peptit hoặc polypeptit mà tương ứng với vùng hoặc nhận được từ một phần hoặc tất cả của một hoặc nhiều vùng miền cố định. Theo các phương án nhất định, vùng cố định của globulin miễn dịch tương ứng với vùng hoặc nhận được từ một phần hoặc tất cả của một hoặc nhiều vùng miền cố định, nhưng không phải tất cả các vùng miền cố định của nguồn kháng thể. Theo các phương án nhất định, vùng cố định chứa các vùng CH2 và CH3 của IgG1, ví dụ, các vùng CH2 và CH3 của IgG1. Theo các phương án nhất định, vùng cố định không chứa vùng CH1. Theo các phương án nhất định, các vùng miền cố định tạo nên vùng cố định của người. Theo một số phương án (ví dụ, theo các biến đổi nhất định của polypeptit hoặc protein liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai mà liên kết đặc hiệu với CD3 hoặc kháng nguyên bề mặt khác trên tế bào T), các vùng miền cố định của protein dung hợp theo sáng chế thiếu hoặc có tối thiểu các chức năng phản ứng lại kích thích do tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và hoạt hóa bổ thể và tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), trong khi giữ lại khả năng liên kết với một số thụ thể Fc (như F_cRn, thụ thể Fc mới sinh ra) và duy trì thời gian bán phân hủy *in vivo* tương đối dài. Theo các biến đổi khác, protein dung hợp theo

sáng chế chứa các vùng cố định mà giữ lại chức năng phản ứng lại kích thích như vậy của một hoặc cả hai ADCC và CDC. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết theo sáng chế được dung hợp với vùng cố định của IgG1 ở người, trong đó vùng cố định của IgG1 có một hoặc nhiều axit amin sau đây bị đột biến: lơxin tại vị trí 234 (L234), lơxin tại vị trí 235 (L235), glyxin tại vị trí 237 (G237), glutamat tại vị trí 318 (E318), lysin tại vị trí 320 (K320), lysin tại vị trí 322 (K322), hoặc kết hợp bất kỳ của nó (đánh số theo EU). Ví dụ, một axit amin bất kỳ hoặc nhiều axit amin trong số các axit amin này có thể được biến đổi thành alanin. Theo phương án khác, vùng Fc của IgG1 có mỗi axit amin trong số L234, L235, G237, E318, K320, và K322 (theo hệ thống đánh số EU) bị đột biến thành alanin (nghĩa là, L234A, L235A, G237A, E318A, K320A, và K322A, tương ứng), và tùy ý đột biến N297A cũng như vậy (nghĩa là, về cơ bản loại trừ sự glycosyl hóa của vùng CH2).

"Vùng Fc" hoặc "miền Fc" dùng để chỉ trình tự polypeptit tương ứng với vùng hoặc nhận được từ một phần của nguồn kháng thể mà chịu trách nhiệm liên kết với các thụ thể của kháng thể trên các tế bào và thành phần C1q của bổ thể. Fc viết tắt của "đoạn kết tinh," đoạn kháng thể dễ dàng tạo ra tinh thể protein. Các đoạn protein khác biệt, mà được mô tả ban đầu bằng phản ứng cắt thủy phân, có thể xác định cấu trúc chung toàn bộ của protein globulin miễn dịch. Như định nghĩa ban đầu theo tài liệu, đoạn Fc chứa các vùng khớp nối của chuỗi nặng được nối với nhau bởi cầu nối đisunfua, các vùng CH2, và CH3. Tuy nhiên, gần đây hơn thuật ngữ này được áp dụng với chuỗi đơn chứa CH3, CH2, và ít nhất một phần khớp nối đủ để tạo ra đime được nối bởi cầu nối đisunfua với chuỗi thứ hai như vậy. Để xem về cấu trúc và chức năng của globulin miễn dịch, xem Putnam, The Plasma Proteins, Vol. V (Academic Press, Inc., 1987), pp. 49-140; và Padlan, Mol. Immunol. 31:169-217, 1994. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ Fc bao gồm các biến thể của các trình tự xuất hiện tự nhiên.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ "SMIP" được sử dụng để chỉ giá đỡ protein như được bộc lộ chung trong, ví dụ, công bố đơn paten US các No. 2003/0133939, 2003/01 18592, và 2005/0136049, mà được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn. "Các phân tử SMIP đặc hiệu cho PSMA" hoặc "các phân tử SMIP" được mô tả trong các ví dụ và trong suốt bản mô tả này được hiểu là các protein liên kết PSMA chứa giá đỡ SMIP, ví dụ, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, vùng liên kết thứ nhất, vùng khớp nối, và vùng cố định của globulin miễn dịch.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ "PIMS" được sử dụng để chỉ giá đỡ protein như được bộc lộ chung trong, ví dụ, công bố đơn paten US No. 2009/0148447, mà được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn. "Các phân tử PIMS đặc hiệu PSMA" hoặc "các phân tử PIMS" được mô tả trong các ví dụ và trong suốt bản mô tả này ở đây được hiểu là các protein liên kết PSMA chứa giá đỡ PIMS, ví dụ, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl, vùng cố định của globulin miễn dịch, vùng khớp nối và vùng liên kết thứ nhất.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phân tử chắn" được sử dụng để chỉ giá đỡ protein dị đime đặc hiệu đơn hoặc đa đặc hiệu như được bộc lộ chung trong các đơn PCT PCT/US2010/62436 và PCT/US2010/62404, mà được đưa hoàn toàn vào đây. "Các phân tử chắn đặc hiệu PSMA" hoặc "các phân tử chắn" được mô tả trong các ví dụ và trong suốt bản mô tả này ở đây được hiểu là các protein liên kết PSMA chứa giá đỡ phân tử chắn, ví dụ, hai chuỗi polypeptit không giống hệt nhau, mỗi chuỗi polypeptit chứa vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Các vùng đime hóa dị loại tiếp xúc với nhau của globulin miễn dịch là khác nhau. Theo một phương án, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch chứa vùng CH1 hoặc dẫn xuất của nó. Theo phương án khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch chứa vùng CL hoặc dẫn

xuất của nó. Theo một phương án, vùng CL là lớp Cκ hoặc Cλ hoặc dẫn xuất của nó.

Như được sử dụng ở đây, "SCORPION" là thuật ngữ được sử dụng để chỉ giá đỡ protein liên kết đa đặc hiệu. SCORPION™ là nhãn hiệu của Emergent Product Development Seattle, LLC. Các protein và các polypeptit liên kết đa đặc hiệu được bộc lộ, ví dụ, trong công bố đơn PCT No. WO 2007/146968, công bố đơn paten U.S. No. 2006/0051844, công bố đơn PCT No. WO 2010/040105, công bố đơn PCT No. WO 2010/003108, và paten US No. 7,166,707, mà được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn. Polypeptit SCORPION chứa hai vùng liên kết (các vùng này có thể được thiết kế để liên kết đặc hiệu với các đích giống hoặc khác nhau), hai vùng khớp nối, và vùng cố định của globulin miễn dịch. Các protein SCORPION là các protein đồng đime chứa hai polypeptit SCORPION giống hệt được nối với nhau qua cầu nối đisunfua. "Các phân tử SCORPION đặc hiệu PSMA" hoặc "các phân tử SCORPION" được mô tả trong các ví dụ và trong suốt bản mô tả này ở đây được hiểu là các protein liên kết PSMA chứa giá đỡ SCORPION, ví dụ, hai vùng liên kết (các vùng này có thể được thiết kế để liên kết đặc hiệu với các đích giống hoặc khác nhau), hai vùng khớp nối, và vùng cố định của globulin miễn dịch.

Như được sử dụng ở đây, "vùng thân" của lectin typ C II dùng để chỉ phần thuộc vùng ngoại bào của lectin typ C II mà nằm giữa vùng tương tự lectin typ C (C-type lectin-like domain, CTLD; ví dụ, tương tự như CTLD của các thụ thể ở tế bào ăn mồi tự nhiên) và vùng xuyên màng. Ví dụ, trong phân tử CD94 ở người (truy cập ngân hàng gen No. AAC50291.1, PRI 30 tháng mười một, 1995), vùng ngoại bào tương ứng với các gốc axit amin 34-179, trong khi CTLD tương ứng với các gốc axit amin 61-176. Do đó, vùng thân của phân tử CD94 ở người chứa các gốc axit amin 34-60 mà được thấy giữa màng và CTLD

(xem Boyington et al., Immunity 10:75, 1999; để mô tả các vùng thân khác, cũng xem Beavil et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 89:753, 1992; và Figdor et al., Nature Rev. Immunol. 2:77, 2002). Các lectin typ C II này cũng có thể có từ sáu đến 10 axit amin nối giữa vùng thân và vùng xuyên màng hoặc CTLD. Theo ví dụ khác, protein NKG2A ở người có 233 axit amin (truy cập ngân hàng gen No. P26715.1, PRI 15 tháng sáu, 2010) có vùng xuyên màng trong phạm vi axit amin 71 -93 và vùng ngoại bào trong phạm vi axit amin 94-233. CTLD chứa các axit amin 119-231, và vùng thân chứa các axit amin 99-116, mà được kéo dài hai phía bởi các điểm nối của năm và hai axit amin. Các lectin typ C II khác, cũng như các vùng liên kết phối tử ngoại bào của chúng, vùng giữa miền hoặc các miền ở thân, và các CTLD là được biết trong nghiên cứu (xem, ví dụ, truy cập ngân hàng gen các No. NP_001993.2; AAH07037.1, PRI 15 tháng bảy, 2006; NP_001773.1, PRI 20 tháng sáu, 1010; AAL65234.1, PRI 17 tháng một, 2002, và CAA04925.1, PRI 14 tháng mười một, 2006, đối với trình tự CD23, CD69, CD72, NKG2A và NKG2D ở người và mô tả của chúng, tương ứng).

Như được sử dụng ở đây, "miền giữa vùng" của protein xuyên màng (ví dụ, protein xuyên màng typ I) dùng để chỉ phần vùng ngoại bào của protein xuyên màng mà nằm giữa hai vùng liền kề. Các ví dụ về các miền giữa vùng bao gồm các miền nối các vùng liền kề ở Ig của các thành viên trong siêu họ globulin miễn dịch (ví dụ, vùng khớp nối của globulin miễn dịch IgG, IgA, IgD, hoặc IgE; vùng nối các vùng IgV và lgC2 của CD2; hoặc vùng nối các vùng IgV và IgC của CD80 hoặc CD86). Ví dụ khác về miền giữa vùng là vùng nối của vùng không phải lg và IgC2 của CD22, lectin typ I tương tự Ig liên kết axit sialic.

Miền polypeptit "nhận được từ" vùng thân của lectin typ C II, hoặc "nhận được từ" miền giữa vùng của protein xuyên màng (ví dụ, vùng khớp nối của globulin miễn dịch), dùng để chỉ khoảng năm đến khoảng 150 trình tự axit

amin, khoảng 5 đến khoảng 100 trình tự axit amin, khoảng 5 đến khoảng 50 trình tự axit amin, khoảng 5 đến khoảng 40 trình tự axit amin, khoảng 5 đến khoảng 30 trình tự axit amin, khoảng 5 đến khoảng 25 trình tự axit amin, khoảng 5 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 10 đến khoảng 25 trình tự axit amin, khoảng 10 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 8 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 9 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 10 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 11 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 12 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 13 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 14 đến khoảng 20 trình tự axit amin, khoảng 15 đến khoảng 20 trình tự axit amin, hoặc khoảng 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20 trình tự axit amin, trong đó tất cả hoặc ít nhất một phần của những trình tự này chứa (i) vùng thân dạng tự nhiên hoặc trình tự miền giữa vùng; (ii) một đoạn của vùng thân dạng tự nhiên hoặc trình tự miền giữa vùng; (iii) polypeptit có ít nhất là 80%, 85%, 90%, hoặc 95% trình tự axit amin giống hệt với (i) hoặc (ii); hoặc (iv) hoặc (i) hoặc (ii) trong đó một, hai, ba, bốn, hoặc năm axit amin bị cắt bỏ, thêm vào, thế, hoặc kết hợp bất kỳ của nó, ví dụ, một hoặc nhiều thay đổi là thế axit amin hoặc một hoặc nhiều đột biến chỉ bao gồm một sự cắt bỏ của axit amin. Theo một số phương án, dẫn xuất của vùng thân bền vững hơn đối với phân cắt thủy phân khi so với trình tự vùng thân dạng tự nhiên, như trình tự nhận được từ khoảng tám đến khoảng 20 axit amin của NKG2A, NKG2D, CD23, CD64, CD72, hoặc CD94.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "các axit amin nối" hoặc "các gốc axit amin nối" dùng để chỉ một hoặc nhiều (ví dụ, khoảng 2-10) gốc axit amin giữa hai miền liền kề hoặc các vùng của polypeptit, như giữa khớp nối và vùng cố định liền kề của globulin miễn dịch hoặc giữa khớp nối và vùng liên kết liền kề hoặc giữa cầu nối peptit mà nối hai vùng biến đổi của globulin miễn dịch và vùng biến đổi kề liền của globulin miễn dịch. Các axit amin nối có thể tạo ra từ

thiết kế cấu trúc của polypeptit (ví dụ, các gốc axit amin do sử dụng vị trí enzym giới hạn trong việc kiến tạo phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit).

Như được sử dụng ở đây, cụm từ "cầu nối giữa CH3 và CH1 hoặc CL" dùng để chỉ một hoặc nhiều (ví dụ, khoảng 2-12, khoảng 2-10, khoảng 4-10, khoảng 5-10, khoảng 6-10, khoảng 7-10, khoảng 8-10, khoảng 9-10, khoảng 8-12, khoảng 9-12, hoặc khoảng 10-12) gốc axit amin giữa đầu C của vùng CH3 (ví dụ, CH3 dạng tự nhiên hoặc CH3 bị đột biến) và đầu N của vùng CH1 hoặc vùng CL (ví dụ, Ck).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bệnh nhân có nhu cầu" dùng để chỉ bệnh nhân bị nguy cơ, hoặc bị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh mà phải điều trị hoặc cải thiện bằng protein hoặc polypeptit liên kết PSMA hoặc chế phẩm của nó được cung cấp ở đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "cầu nối peptit" dùng để chỉ trình tự axit amin mà nối vùng biến đổi của chuỗi nặng với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và cung cấp chức năng đệm thích hợp với tương tác của hai vùng liên kết phụ sao cho polypeptit tạo thành giữ lại ái lực liên kết đặc hiệu với cùng phân tử đích như một kháng thể mà chứa cùng vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng. Theo các phương án nhất định, cầu nối chứa năm đến khoảng 35 axit amin, ví dụ, khoảng 15 đến khoảng 25 axit amin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dược dụng" dùng để chỉ các phân tử tồn tại và các chế phẩm mà không tạo ra các phản ứng dị ứng hoặc các phản ứng phụ nghiêm trọng khác khi dùng bằng cách sử dụng các đường được biết rõ trong nghiên cứu. Các phân tử tồn tại và các chế phẩm được chấp thuận bởi cơ quan điều hành của nhà nước hoặc chính quyền bang hoặc được liệt kê trong dược điển US hoặc trong dược điển chung được biết khác để sử dụng cho động vật, và cụ thể hơn được xem là "dược dụng" cho người.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vùng khởi đầu phiên mã" dùng để chỉ vùng ADN liên quan đến quá trình bám của ARN polymeraza để bắt đầu phiên mã.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "axit nucleic," "phân tử axit nucleic," hoặc "polynucleotit" dùng để chỉ deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit và các polyme của nó ở dạng chuỗi đơn hoặc chuỗi đôi. Nếu không bị giới hạn cụ thể, các thuật ngữ này bao gồm các axit nucleic chứa nucleotit tương tự các nucleotit tự nhiên mà có các tính chất liên kết tương tự như axit nucleic tham chiếu và được chuyển hóa theo cách tương tự như các nucleotit tồn tại tự nhiên. Nếu không được biểu thị theo cách khác, trình tự axit nucleic cụ thể cũng bao gồm đầy đủ các biến thể của nó được cải biến theo cách bảo toàn (ví dụ, thế các mã thoái hóa) và các trình tự bổ sung cũng như trình tự được biểu thị rõ ràng. Cụ thể là, thế các mã thoái hóa có thể đạt được bằng cách tạo ra các trình tự trong đó vị trí thứ ba của một hoặc nhiều mã lựa chọn (hoặc tất cả) được thế với bazơ hỗn hợp và/hoặc các gốc deoxyinosin (Batzer et al. (1991) Nucleic Acid Res. 19:5081; Ohtsuka et al. (1985) J. Biol. Chem. 260:2605-2608; Cassol et al. (1992); Rossolini et al. (1994) Mol. Cell. Probes 8:91-98). Thuật ngữ axit nucleic được sử dụng có thể thay cho gen, cADN, và mARN mã hóa cho gen. Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "axit nucleic," "phân tử axit nucleic," hoặc "polynucleotit" được dự định bao gồm các phân tử ADN (ví dụ, cADN hoặc ADN hệ gen), các phân tử ARN (ví dụ, mARN), các phân tử tương tự ADN hoặc ARN được tạo ra bằng cách sử dụng các nucleotit tương tự, và các dẫn xuất, các đoạn và các nucleotit tương đồng của nó.

Thuật ngữ "biểu hiện" dùng để chỉ sự sinh tổng hợp sản phẩm được mã hóa bởi axit nucleic. Ví dụ, trong trường hợp đoạn axit nucleic mã hóa cho polypeptit quan tâm, biểu hiện liên quan đến phiên mã của đoạn axit nucleic này thành mARN và dịch mã của mARN thành một hoặc nhiều polypeptit.

Các thuật ngữ "đơn vị biểu hiện" và "đoạn có chức năng biểu hiện" được sử dụng có thể thay thế ở đây và chỉ rõ đoạn axit nucleic mã hóa cho polypeptit quan tâm và khả năng cung cấp biểu hiện của đoạn axit nucleic này trong tế bào chủ. Một đơn vị biểu hiện đặc trưng bao gồm vùng khởi đầu phiên mã cho quá trình phiên mã, khung đọc mở mã hóa cho polypeptit quan tâm, và vùng kết thúc phiên mã, tất cả trong cấu hình hoạt động. Ngoài vùng khởi đầu phiên mã cho quá trình phiên mã và vùng kết thúc phiên mã, đơn vị biểu hiện có thể chứa thêm các đoạn axit nucleic khác như, ví dụ, đoạn tăng cường hoặc đoạn tín hiệu đa adenin hóa.

Thuật ngữ "vectơ biểu hiện," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ phân tử axit nucleic, dạng thẳng hoặc tròn, chứa một hoặc nhiều đơn vị biểu hiện. Ngoài một hoặc nhiều đơn vị biểu hiện, vectơ biểu hiện có thể cũng chứa các đoạn axit nucleic bổ sung như, ví dụ, một hoặc nhiều điểm khởi đầu sao mã hoặc một hoặc nhiều dấu chuẩn có thể chọn lọc. Các vectơ biểu hiện nói chung nhận được từ ADN plasmit hoặc ADN của virut, hoặc có thể chứa các yếu tố của cả hai.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "trình tự giống hệt" dùng để chỉ mối liên quan giữa hai hoặc nhiều trình tự polynucleotit hoặc giữa hai hoặc nhiều trình tự polypeptit. Khi vị trí trong một trình tự bị chiếm bởi cùng bazơ của axit nucleic hoặc cùng gốc axit amin trong vị trí tương ứng của trình tự so sánh, các trình tự này được gọi là "giống hệt" tại vị trí đó. Phần trăm "trình tự giống hệt" được tính toán bằng cách xác định số vị trí tại đó bazơ của axit nucleic giống hệt hoặc gốc axit amin giống hệt xuất hiện trong cả hai trình tự để tạo ra số các vị trí "giống hệt". Số các vị trí "giống hệt" sau đó được chia cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh và được nhân với 100 để tạo ra phần trăm "trình tự giống hệt". Phần trăm "trình tự giống hệt" được xác định bằng cách so sánh hai trình tự được sắp xếp thẳng hàng theo cách tối ưu suốt cửa sổ so sánh. Cửa sổ so sánh

đối với các trình tự axit nucleic có thể là, ví dụ, ít nhất là 20 axit nucleic, 30 axit nucleic, 40 axit nucleic, 50 axit nucleic, 60 axit nucleic, 70 axit nucleic, 80 axit nucleic, 90 axit nucleic, 100 axit nucleic, 110 axit nucleic, 120 axit nucleic, 130 axit nucleic, 140 axit nucleic, 150 axit nucleic, 160 axit nucleic, 170 axit nucleic, 180 axit nucleic, 190 axit nucleic, 200 axit nucleic, 300 axit nucleic, 400 axit nucleic, 500 axit nucleic, 600 axit nucleic, 700 axit nucleic, 800 axit nucleic, 900 axit nucleic hoặc 1000 axit nucleic hoặc nhiều hơn về chiều dài. Cửa sổ so sánh đối với các trình tự polypeptit có thể là, ví dụ, ít nhất là 20 axit amin, 30 axit amin, 40 axit amin, 50 axit amin, 60 axit amin, 70 axit amin, 80 axit amin, 90 axit amin, 100 axit amin, 110 axit amin, 120 axit amin, 130 axit amin, 140 axit amin, 150 axit amin, 160 axit amin, 170 axit amin, 180 axit amin, 190 axit amin, 200 axit amin, 300 axit amin hoặc nhiều hơn axit amin về chiều dài. Để các trình tự sắp xếp thẳng hàng theo cách tối ưu nhằm so sánh, phần trình tự polynucleotit hoặc trình tự polypeptit trong cửa sổ so sánh có thể chứa các phần bổ sung hoặc cắt bỏ được gọi là các khoảng trống trong khi trình tự tham chiếu được giữ cố định. Việc sắp xếp thẳng hàng tối ưu là sự sắp xếp thẳng hàng mà, thậm chí với các khoảng trống, tạo ra số các vị trí "giống hệt" lớn nhất có thể giữa trình tự tham chiếu và trình tự so sánh. Phần trăm "trình tự giống hệt" giữa hai trình tự có thể được xác định bằng cách sử dụng dạng chương trình "các trình tự BLAST 2" mà có sẵn từ Trung tâm Quốc gia về thông tin Công nghệ sinh học vào ngày 1 tháng 9, 2004, chương trình của nó được đưa vào các chương trình BLASTN (để so sánh trình tự nucleotit) và BLASTP (để so sánh trình tự polypeptit), mà các chương trình này dựa trên thuật toán của Karlin và Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(12):5873-5877, 1993). Khi sử dụng " các trình tự BLAST 2," các thông số được mặc định như vào ngày 1 tháng 9, 2004, có thể được được sử dụng cho kích cỡ chữ (3), phạt khoảng trống mở (11), phạt khoảng trống kéo dài (1), khoảng trống dốc thẳng (50), giá trị dự kiến (10) và thông số yêu cầu bất kỳ khác bao gồm nhưng không chỉ bị giới hạn ở nền lựa chọn. Hai trình tự nucleotit hoặc trình tự axit

amin được cho là có "trình tự tương tự về cơ bản giống hệt " hoặc "trình tự cơ bản giống hệt" nếu hai trình tự này có ít nhất là 80%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% trình tự giống hệt tương đối so với nhau.

Như được sử dụng ở đây, "polypeptit" hoặc "chuỗi polypeptit" là sự sắp xếp đơn, mạch thẳng và liền kề của các axit amin được liên kết cộng hóa trị. Nó không bao gồm hai chuỗi polypeptit mà liên kết với nhau theo cách không phải đường thẳng, như qua liên kết đisunfua giữa các chuỗi (ví dụ, nửa phân tử globulin miễn dịch trong đó chuỗi nhẹ nối với chuỗi nặng qua liên kết đisunfua). Các polypeptit có thể có hoặc tạo ra một hoặc nhiều liên kết đisunfua giữa các chuỗi. Đối với các polypeptit như được mô tả ở đây, các gốc axit amin liên quan tương ứng với các gốc được chỉ rõ theo SEQ ID NO bao gồm các cải biến sau dịch mã của các gốc như vậy.

"Protein" là cao phân tử chứa một hoặc nhiều chuỗi polypeptit. Protein có thể cũng chứa các thành phần không phải peptit, như các nhóm cacbohydrat. Cacbohydrat và các thành phần thế khác không phải peptit có thể được bổ sung vào protein bởi tế bào trong đó protein này được tạo ra, và sẽ khác theo dạng tế bào. Các protein định nghĩa ở đây theo các thuật ngữ về các cấu trúc axit amin xương sống của chúng; các thành phần thế như các nhóm cacbohydrat nói chung không được chỉ rõ, nhưng tuy nhiên chúng có thể tồn tại.

Như được sử dụng ở đây, "các protein dược miễn dịch modul nhỏ" hoặc SMIP dùng để chỉ giá đỡ protein nói chung được bộc lộ, ví dụ, công bố paten US các No. 2003/0133939, 2003/0118592, và 2005/0136049. SMIP™ là nhãn hiệu của Emergent Product Development Seattle LLC. Protein SMIP có thể chứa chuỗi polypeptit có vùng liên kết, vùng khớp nối và vùng cố định của globulin miễn dịch.

Các thuật ngữ "đầu amino" và "đầu cacboxyl" được sử dụng ở đây để chỉ rõ các vị trí trong các polypeptit. Trong điều kiện cho phép, các thuật ngữ này được sử dụng cho trình tự cụ thể hoặc phần polypeptit liên quan để chỉ rõ vị trí ở gần hoặc vị trí liên quan. Ví dụ, trình tự nhất định, mà có vị trí ở đầu cacboxyl đối với trình tự tham chiếu, trong polypeptit nằm ở gần đầu cacboxyl của trình tự tham chiếu, nhưng không cần thiết tại đầu cacboxyl của polypeptit đầy đủ.

"Thụ thể tế bào T" (T cell receptor, TCR) là phân tử được thấy trên bề mặt các tế bào T mà cùng với CD3, nói chung chịu trách nhiệm nhận biết các kháng nguyên liên kết với các phân tử của phức hệ phù hợp mô chủ yếu (major histocompatibility complex, MHC). Nó gồm có dị đime được nối bởi cầu nối đisunfua của các chuỗi α và β biến đổi lớn ở hầu hết các tế bào T. Ở các tế bào T khác, thụ thể khác cấu thành chuỗi γ và δ biến đổi được biểu hiện. Mỗi chuỗi TCR là thành viên của siêu họ globulin miễn dịch và có một vùng biến đổi đầu N của globulin miễn dịch, một vùng cố định của globulin miễn dịch, vùng xuyên màng, và đuôi ngắn từ tế bào chất tại đầu cuối C (xem Abbas and Lichtman, Cellular and Molecular Immunology (5th Ed.), Editor: Saunders, Philadelphia, 2003; Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 4th Ed., Current Biology Publications, p148, 149, and 172, 1999). TCR như được sử dụng theo sáng chế có thể là từ các loài động vật khác nhau, bao gồm người, chuột nhắt, chuột, hoặc các động vật có vú khác.

"Phức TCR" như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ phức được tạo ra bằng cách kết hợp các chuỗi CD3 với các chuỗi TCR khác. Ví dụ, phức TCR có thể chứa chuỗi CD3γ, chuỗi CD3δ, hai chuỗi CD3ε, đồng đime của chuỗi CD3ζ, chuỗi TCRα, và chuỗi TCRβ. Cách khác, phức TCR có thể gồm có chuỗi CD3γ, chuỗi CD3δ, hai chuỗi CD3ε, đồng đime của chuỗi CD3ζ, chuỗi TCRα, và chuỗi TCRβ.

"Thành phần của phức TCR," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ chuỗi TCR (nghĩa là, TCRα, TCRβ, TCRγ hoặc TCRδ), chuỗi CD3 (nghĩa là, CD3γ, CD3δ, CD3ε hoặc CD3ζ), hoặc phức được tạo bởi hai hoặc nhiều chuỗi TCR hoặc các chuỗi CD3 (ví dụ, phức có TCRα và TCRβ, phức có TCRγ và TCRδ, phức có CD3ε và CD3δ, phức có CD3γ và CD3ε, hoặc phức TCR phụ có TCRα, TCRβ, CD3γ, CD3δ, và hai chuỗi CD3ε).

"Tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể" và "ADCC," như được sử dụng ở đây, để chỉ quá trình sinh ra do tế bào trong đó các tế bào không đặc hiệu gây độc tế bào mà biểu hiện FcγRs (ví dụ, các tế bào đơn nhân như các tế bào ăn mồi tự nhiên (Natural Killer, NK) và các đại thực bào) nhận biết kháng thể liên kết (hoặc protein khác có khả năng liên kết FcγRs) trên tế bào đích và sau đó gây ra dung giải tế bào đích. Nguyên tắc là, tế bào bất kỳ phản ứng lại kích thích với FcγR hoạt hóa có thể là nguyên nhân để sản sinh ADCC. Các tế bào sơ cấp sản sinh ADCC là các tế bào NK, mà chỉ biểu hiện FcγRIII, trong khi các tế bào đơn nhân, phụ thuộc vào giai đoạn hoạt hóa, vị trí khu trú, hoặc biệt hóa của chúng, có thể biểu hiện FcγRI, FcγRII, và FcγRIII. Để xem biểu hiện FcγR trên các tế bào tạo huyết, xem, ví dụ, Ravetch et al., 1991, Annu. Rev. Immunol., 9:457-92.

Thuật ngữ "có hoạt tính ADCC," như được sử dụng ở đây liên quan đến polypeptit hoặc protein, nghĩa là polypeptit hoặc protein (ví dụ, một polypeptit hoặc protein chứa vùng khớp nối của globulin miễn dịch và vùng cố định của globulin miễn dịch có các vùng CH2 và CH3, như nhận được từ IgG (ví dụ, lgG1)), có khả năng sinh ra tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) qua liên kết của thụ thể Fc tiêu hủy tế bào (ví dụ, FcγRIII) trên tế bào miễn dịch tiêu hủy tế bào phản ứng lại kích thích biểu hiện thụ thể Fc (ví dụ, tế bào NK).

"Tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể" và "CDC," như được sử dụng ở đây, để chỉ quá trình trong đó các thành phần huyết thanh bình thường ("bổ thể"), cùng với kháng thể hoặc protein khác liên kết bổ thể C1q gắn vào kháng nguyên đích, biểu lộ dung giải tế bào đích biểu hiện kháng nguyên đích. Bổ thể gồm có nhóm các protein huyết thanh mà hoạt động theo trình tự hòa hợp và theo thứ tự trong trình tự để thực hiện tác động của chúng.

Các thuật ngữ "con đường bổ thể kinh điển" và "hệ bổ thể kinh điển," như được sử dụng ở đây, là có cùng nghĩa và dùng để chỉ con đường cụ thể để hoạt hóa bổ thể. Con đường kinh điển yêu cầu các phức kháng nguyên-kháng thể bắt đầu và liên quan đến sự hoạt hóa, theo cách thứ tự, của chín thành phần protein chính được chỉ rõ là C1 đến C9. Đối với một vài bước trong quá trình hoạt hóa, sản phẩm là enzym xúc tác bước tiếp theo. Chuỗi hoạt động này cung cấp sự khuếch đại và hoạt hóa các lượng bổ thể lớn bằng tín hiệu bắt đầu tương đối nhỏ.

Thuật ngữ "có hoạt tính CDC," như được sử dụng ở đây liên quan đến polypeptit hoặc protein, nghĩa là polypeptit hoặc protein (ví dụ, một polypeptit hoặc protein chứa vùng khớp nối của globulin miễn dịch và vùng cố định của globulin miễn dịch có các vùng CH2 và CH3, như nhận được từ IgG (ví dụ, lgG1)) có khả năng sinh ra tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) qua liên kết của protein bổ thể C1q và hoạt hóa hệ bổ thể kinh điển.

Tính "gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại" và "RTCC," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ quá trình sinh ra do tế bào T trong đó tế bào T gây độc tế bào được tập hợp đến tế bào đích bằng cách sử dụng protein đa đặc hiệu mà có khả năng liên kết đặc hiệu với cả tế bào T gây độc tế bào và tế bào đích, và nhờ đó đáp ứng tế bào T gây độc tế bào phụ thuộc đích được sản sinh ra để kháng tế bào đích.

Các thuật ngữ "hình thành mạch mới" và "tạo mạch" được sử dụng có thể thay thế ở đây. Hình thành mạch mới và tạo mạch dùng để chỉ thế hệ các mạch máu mới ở tế bào, mô, hoặc cơ quan. Kiểm soát tạo mạch biến đổi cụ thể ở các tình trạng bệnh nhất định và, trong nhiều trường hợp, phá hủy do bệnh lý kết hợp với bệnh liên quan đến sự tạo mạch biến đổi hoặc không được điều hòa. Sự tạo mạch liên tục không được điều hòa xuất hiện ở một loạt các trạng thái bệnh, bao gồm các bệnh đặc trưng bởi các tế bào nội mô phát triển bất thường, và duy trì phá hủy do bệnh lý được thấy ở các tình trạng bệnh đó mà gồm có sự thoát ra và tính thấm của các mạch máu.

Thuật ngữ "rối loạn tạo mạch mới" được sử dụng ở đây dùng để chỉ bệnh hoặc rối loạn bất kỳ do bệnh lý mà bị gây ra, ít nhất một phần, bởi hoạt tính tạo mạch bị tăng hoặc không được điều hòa. Các ví dụ về các bệnh hoặc các rối loạn như vậy bao gồm các ung thư khác nhau chứa các khối u rắn. Các bệnh hoặc các rối loạn như vậy chứa hệ mạch được đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức (ví dụ, các ung thư nhất định chứa các khối u rắn, như carcinoma tế bào sáng thận, ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư bàng quang, và ung thư phổi) đặc biệt là phải chịu các phương pháp điều trị nhất định để ức chế sự tạo mạch, như được mô tả thêm ở đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị," "quá trình điều trị," hoặc "quá trình cải thiện" dùng để chỉ điều trị chữa bệnh hoặc điều trị phòng bệnh/ngăn ngừa. Điều trị là chữa bệnh nếu ở cá thể nhận điều trị ít nhất một triệu chứng bệnh được cải thiện hoặc điều trị có thể làm chậm quá trình tiến triển bệnh xấu hơn ở cá thể, hoặc ngăn chặn sự bắt đầu của các bệnh kết hợp bổ sung.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "lượng hữu hiệu chữa bệnh (hoặc liều lượng)" hoặc "lượng hữu hiệu (hoặc liều lượng)" của phân tử hoặc hợp chất liên

kết đặc hiệu dùng để chỉ lượng hợp chất đủ để dẫn đến sự cải thiện một cách rõ rệt có tính chất thống kê một hoặc nhiều triệu chứng bệnh được điều trị. Khi nêu ra thành phần hoạt tính riêng biệt dùng riêng, liều lượng hữu hiệu chữa bệnh dùng để chỉ thành phần riêng biệt đó. Khi nêu ra việc kết hợp, liều lượng hữu hiệu chữa bệnh dùng để chỉ lượng các thành phần hoạt tính kết hợp mà dẫn đến hiệu quả chữa bệnh, không kể liệu nó được dùng theo đợt hoặc dùng đồng thời (trong cùng chế phẩm hoặc dùng đồng thời trong các chế phẩm riêng biệt).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "biến nạp," "chuyển nhiễm," và "tải nạp" dùng để chỉ việc chuyển axit nucleic (nghĩa là, polyme của nucleotit) vào tế bào. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "biến nạp di truyền" dùng để chỉ việc chuyển và hợp nhất ADN, đặc biệt là ADN tái tổ hợp, vào tế bào. Axit nucleic được chuyển có thể được đưa vào tế bào qua vectơ biểu hiện.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "biến thể" hoặc "các biến thể" dùng để chỉ axit nucleic hoặc polypeptit khác với axit nucleic hoặc polypeptit tham chiếu, nhưng giữ lại các tính chất chủ yếu của nó. Nói chung, các biến thể là axit nucleic hoặc polypeptit tương tự toàn bộ một cách chặt chẽ, và, ở nhiều miền, giống hệt với axit nucleic hoặc polypeptit tham chiếu. Ví dụ, biến thể có thể biểu lộ ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 90%, ít nhất là khoảng 95%, ít nhất là khoảng 96%, ít nhất là khoảng 97%, ít nhất là khoảng 98% hoặc ít nhất là khoảng 99% trình tự giống hệt với phần hoạt tính hoặc axit nucleic hoặc polypeptit tham chiếu có độ dài đầy đủ.

Các thuật ngữ "miền biến đổi của chuỗi nhẹ" (cũng được dùng để chỉ như "vùng biến đổi của chuỗi nhẹ" hoặc "VL") và "miền biến đổi của chuỗi nặng" (cũng được dùng để chỉ như "vùng biến đổi của chuỗi nặng" hoặc "VH") để chỉ miền liên kết biến đổi ở chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể, tương ứng. Các miền liên kết biến đổi cấu thành các miền phụ riêng biệt được xác định rõ, được

biết như "các miền xác định bổ sung" (complementarity determining regions, CDRs) và "các miền khung hoạt động" (framework regions, FRs). Theo một phương án, các FR được mô phỏng theo người. Thuật ngữ "CL" dùng để chỉ "vùng cố định ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch" hoặc "vùng cố định của chuỗi nhẹ," nghĩa là, vùng cố định ở chuỗi nhẹ của kháng thể. Thuật ngữ "CH" dùng để chỉ "vùng cố định ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch" hoặc "vùng cố định của chuỗi nặng," mà có thể chia thêm, phụ thuộc vào lớp kháng thể thành các vùng CH1, CH2, và CH3 (IgA, IgD, IgG), hoặc CH1, CH2, CH3, và CH4 (IgE, IgM). "Fab" (đoạn liên kết kháng nguyên) là phần của kháng thể mà liên kết với các kháng nguyên và chứa vùng biến đổi và vùng CH1 của chuỗi nặng được nối với chuỗi nhẹ qua liên kết đisunfua giữa chuỗi.

Các polypeptit, các protein liên kết PSMA, và các thành phần của nó

Sáng chế đề xuất các polypeptit và các protein chứa các vùng liên kết, cụ thể là, vùng liên kết thứ nhất mà liên kết đặc hiệu với PSMA. Các polypeptit và các protein chứa các vùng liên kết theo sáng chế có thể chứa thêm các vùng cố định của globulin miễn dịch, các cầu nối peptit, các vùng khớp nối, các vùng đime hóa/đime hóa dị loại của globulin miễn dịch, các axit amin nối, các đuôi, v.v. Các thành phần này trong các polypeptit và các protein bộc lộ được mô tả chi tiết thêm dưới đây.

Ngoài ra, các polypeptit và các protein liên kết PSMA được bộc lộ ở đây có thể ở dạng kháng thể hoặc protein dung hợp của dạng bất kỳ trong số một loạt các dạng khác nhau (ví dụ, protein dung hợp có thể ở dạng phân tử SMIP, phân tử PIMS, phân tử SCORPION hoặc phân tử chắn).

Protein liên kết PSMA theo sáng chế nói chung bao gồm ít nhất một chuỗi polypeptit liên kết PSMA chứa (a) vùng liên kết PSMA như được trình bày ở đây. Theo các biến đổi nhất định, polypeptit liên kết PSMA bao gồm

thêm (b) đầu cacboxyl của vùng khớp nối đối với vùng liên kết PSMA, và (c) vùng cố định của globulin miễn dịch (ví dụ, phân tử SMIP). Theo những biến đổi thêm, polypeptit liên kết PSMA bao gồm thêm (d) đầu cacboxyl của vùng khớp nối thứ hai đối với vùng cố định của globulin miễn dịch, và (e) đầu cacboxyl của vùng liên kết thứ hai đối với vùng khớp nối thứ hai (ví dụ, polypeptit SCORPION).

Theo những biến đổi khác nữa, polypeptit liên kết PSMA chứa (b) đầu amino của vùng khớp nối đối với vùng liên kết PSMA, và (c) đầu amino của vùng phụ trong globulin miễn dịch đối với vùng khớp nối (ví dụ, polypeptit PIMS).

Đặc biệt là, các polypeptit liên kết PSMA ở các dạng trên đây (SMIP, SCORPION, hoặc PIMS) có khả năng đồng đime hóa, cụ thể là qua liên kết đisunfua, qua vùng cố định của globulin miễn dịch và/hoặc vùng khớp nối (ví dụ, qua vùng cố định của globulin miễn dịch chứa các vùng CH2 và CH3 của IgG và vùng khớp nối của IgG). Vì vậy, theo các phương án nhất định của sáng chế, hai polypeptit giống hệt liên kết PSMA đồng đime hóa để tạo ra protein đime liên kết PSMA.

Theo các phương án khác, polypeptit liên kết PSMA bao gồm thêm vùng đime hóa dị loại mà có khả năng đime hóa dị loại với vùng đime hóa dị loại khác ở chuỗi polypeptit thứ hai không giống hệt. Theo các biến đổi nhất định, chuỗi polypeptit thứ hai để đime hóa dị loại chứa vùng liên kết thứ hai. Do đó, theo các phương án nhất định của sáng chế, hai chuỗi polypeptit không giống hệt nhau, một chuỗi chứa vùng liên kết PSMA và chuỗi thứ hai tùy ý chứa vùng liên kết thứ hai, đime hóa để tạo ra protein dị đime liên kết PSMA.

Các polypeptit, các protein liên kết PSMA, và các thành phần khác nhau của chúng được mô tả thêm dưới đây.

Các vùng liên kết

Như được biểu thị trên đây, polypeptit liên kết globulin miễn dịch theo sáng chế chứa vùng liên kết mà liên kết đặc hiệu với với PSMA. Theo một số biến đổi, vùng liên kết PSMA có khả năng cạnh tranh để liên kết PSMA với kháng thể có các miền V_L và V_H có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:5 và SEQ ID NO:2, tương ứng (ví dụ, mAb 107-1A4), hoặc với Fv chuỗi đơn (scFv) có trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:21. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA chứa (i) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch (V_L) chứa các CDR LCDR1, LCDR2, và LCDR3, và (ii) vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch (V_H) chứa các CDR HCDR1, HCDR2, và HCDR3. Các vùng liên kết PSMA thích hợp bao gồm các vùng có các miền V_L và V_H nhận được từ mAb 107-1A4. Theo một số phương án như vậy, LCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:17 và/hoặc HCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:11; và LCDR1 và LCDR2 tùy ý có các trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:15 và SEQ ID NO:16, tương ứng, và HCDR1 và HCDR2 tùy ý có các trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:9 và SEQ ID NO: 10, tương ứng. Theo một số phương án, ví dụ, LCDR1, LCDR2, và LCDR3 có các trình tự axit amin tương ứng được thể hiện trong các SEQ ID NO:15, 16, và 17; và/hoặc HCDR1, HCDR2, và HCDR3 có các trình tự axit amin như được thể hiện trong các SEQ ID NO:9, 10, và 11 tương ứng.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết PSMA có thể chứa một hoặc nhiều vùng liên kết bổ sung (ví dụ, vùng liên kết thứ hai) mà liên kết đích khác PSMA. Các phân tử đích khác này có thể chứa, ví dụ, xytokin đặc biệt hoặc phân tử mà nhắm đích đến polypeptit có vùng liên kết với dạng tế bào cụ thể, độc tố, thụ thể bổ sung của tế bào, kháng thể, v.v..

Theo các phương án nhất định, vùng liên kết, ví dụ, như phần của phân tử chắn hoặc phân tử SCORPION, có thể chứa vùng liên kết TCR để tập hợp tế bào T đến các tế bào đích biểu hiện PSMA. Theo các phương án nhất định, polypeptit dị đime như được mô tả ở đây có thể chứa vùng liên kết mà liên kết đặc hiệu với phức TCR hoặc thành phần của nó (ví dụ, TCRα, TCRβ, CD3γ, CD3δ, và CD3ε) và vùng liên kết khác mà liên kết đặc hiệu với PSMA.

Các kháng thể làm ví dụ kháng CD3 mà vùng liên kết theo sáng chế có thể nhận được từ đó bao gồm kháng thể đơn dòng CRIS-7 (Reinherz, E. L. et al. (eds.), Leukocyte typing II., Springer Verlag, New York, (1986); các trình tự axit amin V_L và V_H tương ứng được thể hiện trong SEQ ID NO: 153

(QVVLTQSPAIMSAFPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIY
DSS
KLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMETEDAATYYCQQWSRNPPTFGGG
TKLQITR) và SEQ ID NO:154
(QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRSTMHWVKQRPGQGLE
WIGYINP
SSAYTNYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCASPQV
HYDYNGFPYWGQGTLVTVSA)); HuM291 (Chau et al. (2001) Transplantion 71:941-950; các trình tự axit amin V_L và V_H tương ứng được thể hiện trong SEQ ID NO:86
(DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSV
SYMNWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK) và SEQ ID NO:87
(QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISY
TMHWVRQAPGQGLEWMGYINPRSGYTHYNQKLKDKATLTADKSAST
AYMELSSLRSEDTAVYYCARSAYYDYDGFAYWGQGTLVTVSS)); kháng thể đơn dòng BC3 (Anasetti et al. (1990) J. Exp. Med. 172:1691); kháng thể

đơn dòng OKT3 (Ortho multicenter Transplant Study Group (1985) N. Engl. J. Med. 313:337) và các dẫn xuất của nó như OKT3 ala-ala (cũng được dùng để chỉ như OKT3 AA-FL hoặc OKT3 FL), biến thể Fc được mô phỏng theo người có các alanin thế tại các vị trí 234 và 235 (Herold et al. (2003) J. Clin. Invest. 11:409); kháng thể đơn dòng được mô phỏng theo kháng thể của người (visilizumab) (Carpenter et al. (2002) Blood 99:2712), kháng thể đơn dòng G19-4 (Ledbetter et al., 1986, J. Immunol. 136:3945) và kháng thể đơn dòng 145-2C11 (Hirsch et al. (1988) J. Immunol. 140: 3766). Kháng thể làm ví dụ kháng TCR là kháng thể đơn dòng BMA031 (Borst et al. (1990) Human Immunology 29:175-188).

Theo một số phương án, vùng liên kết là đoạn Fv chuỗi đơn (scFv) mà chứa các miền V_H và V_L đặc hiệu đối với đích quan tâm. Theo các phương án nhất định, các miền V_H và V_L là các miền ở người.

Theo các phương án nhất định, vùng liên kết PSMA chứa vùng hoặc là scFv mà có ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 91 %, ít nhất khoảng 92%, ít nhất khoảng 93%, ít nhất khoảng 94%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 96%, ít nhất khoảng 97%, ít nhất khoảng 98%, ít nhất khoảng 99%, ít nhất khoảng 99,5%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin của scFv có SEQ ID NO: 19, 21, 30, 31, 34 hoặc 35.

Theo các phương án liên quan, vùng liên kết PSMA chứa vùng hoặc là trình tự mà có ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 91 %, ít nhất khoảng 92%, ít nhất khoảng 93%, ít nhất khoảng 94%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 96%, ít nhất khoảng 97%, ít nhất khoảng 98%, ít nhất khoảng 99%, ít nhất khoảng 99,5%, hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) (ví dụ, SEQ ID NO:23) hoặc với vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) (ví dụ, SEQ ID NO:25 hoặc SEQ ID NO:27), hoặc cả hai.

Theo các phương án khác, mỗi CDR chứa không nhiều hơn một, hai, hoặc ba sự thế, chèn thêm hoặc cắt bỏ, khi so với CDR từ kháng thể đơn dòng hoặc đoạn hoặc dẫn xuất của nó mà liên kết đặc hiệu với đích quan tâm (ví dụ, PSMA).

Theo một số phương án của protein liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai mà liên kết đặc hiệu với CD3ε, vùng liên kết thứ hai cạnh tranh với kháng thể đơn dòng CRIS-7 hoặc HuM291 để liên kết với CD3ε. Theo các biến đổi nhất định, vùng liên kết CD3 bao gồm vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch (V_L) và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch (V_H) nhận được từ kháng thể đơn dòng CRIS-7 hoặc HuM291 (ví dụ, V_L và V_H của vùng liên kết thứ hai có thể là các miền biến đổi được mô phỏng theo vùng này ở người lần lượt chứa các CDR ở chuỗi nhẹ và các CDR ở chuỗi nặng của kháng thể đơn dòng). Ví dụ, các vùng V_L và V_H nhận được từ CRIS-7 có thể được chọn từ (a) vùng V_L chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 139-245 của SEQ ID NO:47 và vùng V_H chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 1-122 của SEQ ID NO:47; và (b) vùng V_L chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 634-740 của SEQ ID NO:78 và vùng V_H chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% hoặc 100% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong các gốc 496-616 của SEQ ID NO:78.

Theo các phương án nhất định, vùng miền liên kết V_L và/hoặc V_H theo sáng chế nhận được từ V_L và/hoặc V_H của kháng thể đơn dòng được biết (ví dụ, 107-1A4, CRIS-7, hoặc HuM291) và chứa khoảng một hoặc nhiều (ví dụ, khoảng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) axit amin thêm vào, khoảng một hoặc nhiều (ví dụ, khoảng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) axit amin bị cắt bỏ, khoảng một hoặc nhiều

(ví dụ, khoảng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) axit amin thế (ví dụ, các axit amin thế bảo toàn hoặc các axit amin thế không bảo toàn), hoặc kết hợp các biến đổi được lưu ý trên đây, khi so với V_L và/hoặc V_H của kháng thể đơn dòng được biết. (Các) axit amin thêm vào, (các) axit amin cắt bỏ hoặc (các) axit amin thế có thể ở chỗ bất kỳ trong vùng V_L và/hoặc vùng V_H, bao gồm tại đầu amino hoặc đầu cacboxyl hoặc cả hai đầu của miền này, miễn là mỗi CDR không có biến đổi hoặc bao gồm tối đa là một, hai, hoặc ba biến đổi và miễn là vùng liên kết chứa vùng V_L và/hoặc vùng V_H được cải biến có thể vẫn liên kết đặc hiệu với đích của nó với ái lực tương tự như vùng liên kết dạng tự nhiên.

Theo một số biến đổi, vùng liên kết là Fv chuỗi đơn (scFv) chứa các miền V_L và V_H của globulin miễn dịch được nối với nhau bởi cầu nối peptit. Sử dụng các cầu nối peptit để nối các miền V_L và V_H là được biết rõ trong nghiên cứu, và có nhiều công bố trong lĩnh vực cụ thể này. Cầu nối peptit được sử dụng rộng rãi là 15 đơn phân axit amin gồm có ba trình tự lặp lại của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser ($(Gly_4Ser)_3$) (SEQ ID NO: 152). Các cầu nối khác được sử dụng, và công nghệ biểu hiện thể thực khuẩn, cũng như công nghệ lây nhiễm thể thực khuẩn chọn lọc, được sử dụng để đa dạng hóa và tuyển chọn các trình tự cầu nối thích hợp (Tang et al., J. Biol. Chem. 271, 15682-15686, 1996; Hennecke et al., Protein Eng. 11, 405-410, 1998). Theo các phương án nhất định, các miền V_L và V_H được nối với nhau bởi cầu nối peptit có trình tự axit amin chứa công thức $(Gly_4Ser)_n$, trong đó n = 1-5 (SEQ ID NO: 165). Các cầu nối thích hợp khác có thể đạt được bằng cách tối ưu hóa cầu nối đơn giản (ví dụ,$(Gly_4Ser)_n$) qua gây đột biến ngẫu nhiên.

Theo các phương án nhất định, vùng liên kết chứa các miền V_L và/hoặc V_H của globulin miễn dịch được mô phỏng theo người. Các kỹ thuật đối với các miền V_L và V_H của globulin miễn dịch được mô phỏng theo người đã được biết

trong nghiên cứu và được thảo luận, ví dụ, trong công bố đơn paten Mỹ No. 2006/0153837.

"Sự mô phỏng theo người" được dự định để tạo ra kháng thể mà có tính gây tạo miễn dịch thấp, các tính chất liên kết với kháng nguyên của phân tử gốc được lưu giữ hoàn toàn. Để giữ lại tất cả các tính chất liên kết với kháng nguyên của kháng thể gốc, cấu trúc của vị trí liên kết kháng nguyên của nó được tái tạo lại ở dạng "được mô phỏng theo người". Điều này có thể được đạt được bằng cách chỉ ghép các CDR không phải của người vào các vùng biến đổi khung hoạt động và vùng cố định của người, có hoặc không có sự lưu giữ các gốc then chốt trong khung hoạt động (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Verhoeyen et al., Science 239:1539 (1988)) hoặc bằng cách tái tổ hợp toàn bộ các vùng biến đổi không phải của người (để bảo tồn các tính chất liên kết phối tử), nhưng "che giấu" chúng bằng bề mặt tương tự ở người qua việc thay thế đúng các gốc tiếp xúc (để làm giảm tính kháng nguyên) (Padlan, Molec. Immunol. 28:489 (1991)).

Về cơ bản, sự mô phỏng theo người bằng cách ghép CDR chỉ liên quan đến việc tái tổ hợp các CDR của kháng thể không phải của người vào khung hoạt động trong vùng biến đổi của người và vùng cố định của người. Về mặt lý thuyết, điều này cơ bản làm giảm hoặc loại trừ tính gây tạo miễn dịch (ngoại trừ nếu các khác biệt allotyp hoặc idiotyp tồn tại). Tuy nhiên, nó cũng được báo cáo là một số gốc trong khung hoạt động của kháng thể gốc cũng có thể cần được bảo tồn (Reichmann et al., Nature, 332:323 (1988); Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10,029 (1989)).

Các gốc trong khung hoạt động cần được bảo tồn phải nhận biết qua việc xây dựng mô hình máy tính. Cách khác, các gốc then chốt trong khung hoạt động có thể có khả năng được nhận biết bằng cách so sánh các cấu trúc vị trí

liên kết kháng nguyên được biết (Padlan, Molec. Immunol., 31 (3): 169-217 (1994), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các gốc ảnh hưởng tiềm năng đến liên kết kháng nguyên rơi vào một vài nhóm. Nhóm thứ nhất bao gồm các gốc mà kề với bề mặt vị trí kháng nguyên, do đó tạo sự tiếp xúc trực tiếp với các kháng nguyên. Các gốc này bao gồm các gốc ở đầu amino và các gốc liền kề với các CDR. Nhóm thứ hai bao gồm các gốc mà có thể thay đổi cấu trúc hoặc sắp xếp thẳng hàng tương đối của các CDR, bằng cách tiếp xúc các CDR hoặc chuỗi peptit khác trong kháng thể. Nhóm thứ ba bao gồm các axit amin có các mạch bên bị che mà có thể ảnh hưởng đến cấu trúc nguyên vẹn của các vùng biến đổi. Các gốc trong các nhóm này thường được thấy ở các vị trí giống nhau (Padlan, 1994, ở trên) mặc dù các vị trí của chúng khi được nhận biết có thể khác nhau phụ thuộc vào hệ thống đánh số (xem Kabat et al., "Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991).

Mặc dù các phương án được mô tả ở đây liên quan đến các phân tử SMIP, SCORPION, và phân tử chắn được mô phỏng theo người, và không phải là các kháng thể, hiểu biết về các kháng thể được mô phỏng theo người trong nghiên cứu có thể được áp dụng cho các polypeptit theo sáng chế.

Vùng khớp nối

Theo các phương án nhất định, khớp nối là vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch ở người. Theo các phương án nhất định khác, một hoặc nhiều gốc axit amin có thể được bổ sung vào đầu amino hoặc đầu cacboxyl của vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch như một phần trong thiết kế cấu trúc protein dung hợp. Ví dụ, các gốc axit amin nối bổ sung tại đầu amino của khớp nối có thể là "RT," "RSS," "TG," hoặc "T," hoặc tại đầu

cacboxyl của khớp nối có thể là "SG", hoặc cắt bỏ khớp nối có thể được kết hợp với bổ sung, như ΔP với "SG" được bổ sung vào đầu cacboxyl.

Theo các phương án nhất định, khớp nối là khớp nối biến đổi của globulin miễn dịch trong đó một hoặc nhiều gốc xystein trong vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch được thế bởi một hoặc nhiều gốc axit amin khác (ví dụ, serin hoặc alanin).

Các khớp nối biến đổi làm ví dụ của globulin miễn dịch bao gồm vùng khớp nối của globulin miễn dịch IgG1 ở người có một, hai hoặc ba gốc xystein được thấy ở khớp nối lgG dạng tự nhiên ở người được thế bởi một, hai hoặc ba gốc axit amin khác nhau (ví dụ, serin hoặc alanin). Khớp nối biến đổi của globulin miễn dịch có thể có thêm prolin được thế với axit amin khác (ví dụ, serin hoặc alanin). Ví dụ, khớp nối biến đổi của IgG1 ở người được mô tả trên đây có thể có thêm prolin nằm ở đầu cacboxyl đối với ba xystein của vùng khớp nối dạng tự nhiên IgG1 ở người được thế bởi gốc axit amin khác (ví dụ, serin, alanin). Theo một phương án, các prolin của vùng lõi khớp nối không được thế.

Theo các phương án nhất định, polypeptit khớp nối chứa polypeptit hoặc là trình tự mà ít nhất là 80%, ít nhất là 81%, ít nhất là 82%, ít nhất là 83%, ít nhất là 84%, ít nhất là 85%, ít nhất là 86%, ít nhất là 87%, ít nhất là 88%, ít nhất là 89%, ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99% giống hệt với vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch, như khớp nối dạng tự nhiên lgG1 ở người, khớp nối dạng tự nhiên lgG2 ở người, hoặc khớp nối dạng tự nhiên lgG4 ở người.

Theo các phương án khác, khớp nối có mặt trong polypeptit liên kết PSMA có thể là khớp nối mà không dựa trên hoặc nhận được từ khớp nối của globulin miễn dịch (nghĩa là, không là khớp nối dạng tự nhiên của globulin

miễn dịch hoặc khớp nối biến đổi của globulin miễn dịch). Các ví dụ về các khớp nối như vậy bao gồm các peptit có khoảng năm đến khoảng 150 axit amin nhận được từ miền giữa vùng của protein xuyên màng hoặc vùng thân của lectin typ C II, ví dụ, các peptit có khoảng tám đến 25 axit amin và các peptit có khoảng bảy đến 18 axit amin.

Theo các phương án nhất định, khớp nối giữa vùng hoặc khớp nối vùng thân có bảy đến 18 axit amin và có thể tạo ra cấu trúc cuộn được cuộn xoắn ốc α. Theo các phương án nhất định, khớp nối giữa vùng hoặc khớp nối vùng thân chứa 0, 1, 2, 3, hoặc 4 xystein. Khớp nối giữa vùng hoặc khớp nối vùng thân làm ví dụ là các đoạn peptit của các miền giữa vùng hoặc các miền ở thân, như các đoạn mười đến 150 axit amin từ các miền ở thân của CD69, CD72, CD94, NKG2A và NKG2D.

Theo các phương án nhất định, các trình tự khớp nối có khoảng 5 đến 150 axit amin, 5 đến 10 axit amin, 10 đến 20 axit amin, 20 đến 30 axit amin, 30 đến 40 axit amin, 40 đến 50 axit amin, 50 đến 60 axit amin, 5 đến 60 các axit amin, 5 đến 40 axit amin, 8 đến 20 axit amin, hoặc 10 đến 15 axit amin. Khớp nối có thể là cơ bản linh động, nhưng có thể cũng cung cấp đặc điểm cứng nhắc hơn hoặc có thể chứa cấu trúc xoắn ốc α sơ cấp với cấu trúc tấm β tối thiểu. Độ dài hoặc các trình tự của các khớp nối có thể ảnh hưởng đến ái lực liên kết của các vùng liên kết mà các khớp nối được nối trực tiếp hoặc gián tiếp với các vùng này (qua vùng hoặc miền khác, như vùng đime hóa dị loại) cũng như một hoặc nhiều hoạt tính của các phần trong vùng Fc mà các khớp nối trực tiếp hoặc gián tiếp được nối vào các phần này.

Theo các phương án nhất định, các trình tự khớp nối bền vững trong huyết tương và huyết thanh và bền vững đối với phân cắt thủy phân. Lysin thứ nhất trong vùng khớp nối phía trên của IgG1 có thể bị đột biến để giảm tối thiểu

phân cắt thủy phân, ví dụ, lysin có thể được thế với metionin, threonin, alanin hoặc glyxin, hoặc bị cắt bỏ.

Theo một số phương án của sáng chế, polypeptit liên kết PSMA có khả năng tạo ra dị đime với chuỗi polypeptit thứ hai và chứa vùng khớp nối (a) là đầu amino ngay lập tức đối với vùng cố định của globulin miễn dịch (ví dụ, đầu amino đối với vùng CH2 trong đó vùng cố định của globulin miễn dịch chứa các vùng CH2 và CH3, hoặc đầu amino đối với vùng CH3 trong đó các miền phụ của globulin miễn dịch chứa các vùng CH3 và CH4), (b) được đặt giữa và nối vùng liên kết (ví dụ, scFv) và vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch, (c) được đặt giữa và nối vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch và vùng cố định của globulin miễn dịch (ví dụ, trong đó vùng cố định của globulin miễn dịch chứa các vùng CH2 và CH3 hoặc các vùng CH3 và CH4), (d) được đặt giữa và nối vùng cố định của globulin miễn dịch và vùng liên kết, (e) tại đầu amino của chuỗi polypeptit, hoặc (f) tại đầu cacboxyl của chuỗi polypeptit. Chuỗi polypeptit chứa vùng khớp nối như được mô tả ở đây sẽ có khả năng kết hợp với chuỗi polypeptit khác để tạo ra protein dị đime được cung cấp ở đây, và dị đime được tạo ra này sẽ chứa vùng liên kết mà giữ lại tính đặc hiệu đích của nó hoặc ái lực liên kết đích đặc hiệu của nó.

Theo các phương án nhất định, khớp nối có mặt trong polypeptit mà tạo ra dị đime với chuỗi polypeptit khác có thể là khớp nối của globulin miễn dịch, như vùng khớp nối dạng tự nhiên của globulin miễn dịch hoặc vùng khớp nối bị biến đổi của globulin miễn dịch của nó Theo các phương án nhất định, khớp nối của một chuỗi polypeptit trong protein dị đime là giống hệt với khớp nối tương ứng của chuỗi polypeptit khác của dị đime này. Theo các phương án nhất định khác, khớp nối của một chuỗi là khác với khớp nối của chuỗi khác (về độ dài hoặc trình tự của chúng). Các khớp nối khác nhau trong các chuỗi khác nhau cho phép thao tác khác nhau về các ái lực liên kết của các vùng liên kết mà các

khớp nối được nối với chúng, sao cho dị đime có thể liên kết với đích của một vùng liên kết theo cách ưu tiên đối với đích của vùng liên kết khác. Ví dụ, theo các phương án nhất định, protein dị đime có vùng liên kết CD3 hoặc TCR ở một chuỗi và vùng liên kết PSMA ở chuỗi khác. Hai khớp nối khác nhau ở hai chuỗi có thể cho phép dị đime liên kết với PSMA đầu tiên, và sau đó liên kết với CD3 hoặc thành phần TCR khác thứ hai. Vì vậy, dị đime có thể tập hợp các tế bào T CD3+ đến các tế bào biểu hiện PSMA (ví dụ, các tế bào khối u biểu hiện PSMA), mà dẫn đến có thể làm hư hại hoặc phá hủy các tế bào biểu hiện PSMA.

Các vùng khớp nối thích hợp làm ví dụ để sử dụng theo sáng chế được thể hiện trong bảng 1 và bảng 2 dưới đây. Các vùng khớp nối làm ví dụ bổ sung được thể hiện trong các SEQ ID NO: 241-244, 601, 78, 763-791, 228, 379-434, 618-749 theo WO201 1/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Bảng 1. Các vùng khớp nối làm ví dụ

Vùng khớp nối	Trình tự axit amin	SEQ ID NO
Khớp nối sss(s)-hIgG1	EPKSSDKTHTSPPSS	SEQ ID NO:88
Khớp nối csc(s)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:89
Khớp nối ssc(s)-hIgG1	EPKSSDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:90
Khớp nối scc(s)-hIgG1	EPKSSDKTHTCPPCS	SEQ ID NO:91
Khớp nối css(s)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPSS	SEQ ID NO:92
Khớp nối scs(s)-hIgG1	EPKSSDKTHTCPPSS	SEQ ID NO:93
Khớp nối ccc(s)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:94
Khớp nối ccc(p)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:95
Khớp nối sss(p)-hIgG1	EPKSSDKTHTSPPSP	SEQ ID NO:96
Khớp nối csc(p)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:97
Khớp nối ssc(p)-hIgG1	EPKSSDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:98
Khớp nối scc(p)-hIgG1	EPKSSDKTHTCPPCP	SEQ ID NO:99

Vùng khớp nối	Trình tự axit amin	SEQ ID NO
Khớp nối css(p)-hIgG1	EPKSCDKTHTSPPSP	SEQ ID NO:100
Khớp nối scs(p)-hIgG1	EPKSSDKTHTCPPSP	SEQ ID NO:101
Scppcp	SCPPCP	SEQ ID NO:102
STD1	NYGGGGSGGGGSGGGGSGNS	SEQ ID NO:103
STD2	NYGGGGSGGGGSGGGGSGNY GGGGSGGGGSGGGGSGNS	SEQ ID NO:104
H1	NS	SEQ ID NO:105
H2	GGGGSGNS	SEQ ID NO:106
H3	NYGGGGSGNS	SEQ ID NO:107
H4	GGGGSGGGGSGNS	SEQ ID NO:108
H5	NYGGGGSGGGGSGNS	SEQ ID NO:109
H6	GGGGSGGGGSGGGGSGNS	SEQ ID NO:110
H7	GCPPCPNS	SEQ ID NO:62
$(G_4S)_3$	GGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO:111
H105	SGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO:155
$(G_4S)_4$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO:112
H75 (thể đột biến bốn lần của NKG2A)	QRHNNSSLNTGTQMAGHSPN S	SEQ ID NO:63
H83 (nhận được từ NKG2A)	SSLNTGTQMAGHSPNS	SEQ ID NO:65
H106 (nhận được từ NKG2A)	QRHNNSSLNTGTQMAGHS	SEQ ID NO:156
H81 (nhận được từ NKG2D)	EVQIPLTESYSPNS	SEQ ID NO:64
H91 (nhận được từ NKG2D)	NSLANQEVQIPLTESYSPNS	SEQ ID NO:66
H94	SGGGGSGGGGSGGGGSPNS	SEQ ID NO:67

Bảng 2: Các vùng khớp nối làm ví dụ (nhận được từ vùng khớp nối H7, vùng thân của lectin typ C II, hoặc miền giữa vùng của protein xuyên màng typ I)

Vùng khớp nối	Trình tự axit amin	Phân tử và/hoặc vùng khớp nối nhận được từ đó	SEQ ID NO:
H16	LSVKADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:113
H17	LSVKADFLTPSISCPPCPNS	CD80 + H7	SEQ ID NO:114
H18	LSVLANFSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:115
H19	LSVLANFSQPEISCPPCPNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:116
H20	LKIQERVSKPKISNS	CD2	SEQ ID NO:117
H21	LKIQERVSKPKISCPPCPNS	CD2 + H7	SEQ ID NO:118
H22	LNVSERPFPPHIQNS	CD22	SEQ ID NO:119
H23	LDVSERPFPPHIQSCPPCPNS	CD22 + H7	SEQ ID NO:120
H24	REQLAEVTLSLKANS	CD80	SEQ ID NO:121
H25	REQLAEVTLSLKACPPCPNS	CD80 + H7	SEQ ID NO:122
H26	RIHQMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:123
H27	RIHQMNSELSVLACPPCPNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:124
H28	DTKGKNVLEKIFSNS	CD2	SEQ ID NO:125
H30	LPPETQESQEVTLNS	CD22	SEQ ID

Vùng khớp nối	Trình tự axit amin	Phân tử và/hoặc vùng khớp nối nhận được từ đó	SEQ ID NO:
			NO:126
H32	RIHLNVSERPFPPNS	CD22	SEQ ID NO:127
H33	RIHLNVSERPFPPCPPCPNS	CD22 + H7	SEQ ID NO:128
H36	GCPPCPGGGGSNS	H7	SEQ ID NO:129
H40	GCPPCPANS	H7	SEQ ID NO:130
H41	GCPPCPANS	H7	SEQ ID NO:131
H42	GCPPCPNS	H7	SEQ ID NO:132
H44	GGGASCPPCPGNS	H7	SEQ ID NO:133
H45	GGGASCPPCAGNS	H7	SEQ ID NO:134
H46	GGGASCPPCANS	H7	SEQ ID NO:135
H47	LSVKADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:136
H48	ADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:137
H50	LSVLANFSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:138
H51	LSVLANFSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:139
H52	SQPEIVPISNS	CD86	SEQ ID NO:140
H53	SQPEIVPISCPPCPNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:141

Vùng khớp nối	Trình tự axit amin	Phân tử và/hoặc vùng khớp nối nhận được từ đó	SEQ ID NO:
H54	SVLANFSQPEISCPPCPNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:142
H55	RIHQMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:143
H56	QMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:144
H57	VSERPFPPNS	CD22	SEQ ID NO:145
H58	KPFFTCGSADTCPNS	CD72	SEQ ID NO:146
H59	KPFFTCGSADTCPNS	CD72	SEQ ID NO:147
H60	QYNCPGQYTFSMPNS	CD69	SEQ ID NO:148
H61	EPAFTPGPNIELQKDSDCPNS	CD94	SEQ ID NO:149
H62	QRHNNSSLNTRTQKARHCPNS	NKG2A	SEQ ID NO:150
H63	NSLFNQEVQIPLTESYCPNS	NKG2D	SEQ ID NO:151

Các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch

Theo các phương án nhất định, polypeptit hoặc protein liên kết PSMA theo sáng chế có thể chứa "vùng đime hóa của globulin miễn dịch" hoặc "vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch."

"Vùng đime hóa của globulin miễn dịch" hoặc "vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch," như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ vùng globulin miễn

dịch của chuỗi polypeptit mà tương tác hoặc kết hợp theo cách ưu tiên với vùng khác trong globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit khác, trong đó tương tác giữa các vùng đime hóa dị loại khác nhau của globulin miễn dịch về cơ bản góp phần hoặc thúc đẩy đime hóa dị loại có hiệu quả giữa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai (nghĩa là, tạo thành đime giữa hai chuỗi polypeptit khác nhau, mà cũng được dùng để chỉ như "dị đime" hoặc "protein dị đime"). Các tương tác giữa các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch "về cơ bản góp phần hoặc thúc đẩy có hiệu quả" đime hóa dị loại của chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai nếu đime hóa giữa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai bị giảm rõ rệt có tính chất thống kê khi không có mặt vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit thứ nhất và/hoặc vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit thứ hai. Theo các phương án nhất định, khi chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai cùng được biểu hiện, ít nhất là 60%, ít nhất là khoảng 60% đến khoảng 70%, ít nhất là khoảng 70% đến khoảng 80%, ít nhất là 80% đến khoảng 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai tạo ra các dị đime với nhau. Đại diện các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch bao gồm vùng CH1 của globulin miễn dịch, vùng CL1 của globulin miễn dịch (ví dụ, lớp Cκ hoặc Cλ), hoặc các dẫn xuất của nó, bao gồm các vùng CH1 và CL dạng tự nhiên của globulin miễn dịch và các vùng CH1 và CL biến đổi (hoặc đột biến) của globulin miễn dịch, như được cung cấp ở đây.

Các vùng đime hóa/các vùng đime hóa dị loại có thể được sử dụng với mong muốn là tạo ra các dị đime từ hai chuỗi polypeptit không giống hệt nhau, trong đó một hoặc cả hai chuỗi polypeptit chứa vùng liên kết. Theo các phương án nhất định, một chuỗi polypeptit thành viên của dị đime nhất định được mô tả ở đây không chứa vùng liên kết. Như được biểu thị trên đây, protein dị đime theo sáng chế chứa vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch ở mỗi chuỗi

polypeptit. Các vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch ở các chuỗi polypeptit dị đime là khác nhau và vì vậy chúng có thể được cải biến theo cách khác nhau để làm dễ dàng quá trình đime hóa dị loại của cả hai chuỗivà làm tối thiểu quá trình đồng đime hóa của chuỗi này hay chuỗi kia. Như được thể hiện trong các ví dụ, các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch được cung cấp ở đây cho phép đime hóa dị loại có hiệu quả giữa các polypeptit khác nhau và làm dễ dàng việc tinh chế protein dị đime tạo ra.

Như được cung cấp ở đây, các vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là hữu ích để thúc đẩy quá trình đime hóa dị loại của hai polypeptit chuỗi đơn khác nhau (ví dụ, một chuỗi ngắn và một chuỗi dài) theo sáng chế chứa các vùng CH1 và CL của globulin miễn dịch, ví dụ, các vùng CH1 và CL của người. Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CH1 dạng tự nhiên, như vùng CH1 của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM dạng tự nhiên. Theo các phương án khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CH1 dạng tự nhiên của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM ở người như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 114, 186-192 và 194, tương ứng, theo đơn PCT No. WO201 1/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CH1 dạng tự nhiên của IgG1 ở người như được thể hiện trong SEQ ID NO: 114 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CH1 biến đổi của globulin miễn dịch, như vùng CH1 biến đổi của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM. Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CH1 biến đổi đổi của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM ở người. Theo các

phương án vẫn khác, gốc xystein của vùng CH1 dạng tự nhiên, (ví dụ, CH1 ở người) liên quan đến việc tạo ra liên kết đisunfua với vùng CL dạng tự nhiên của globulin miễn dịch (ví dụ, CL ở người), bị cắt bỏ hoặc được thế trong vùng CH1 biến đổi của globulin miễn dịch sao cho liên kết đisunfua không được tạo giữa vùng CH1 biến đổi và vùng CL dạng tự nhiên.

Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CL dạng tự nhiên, như vùng Cκ dạng tự nhiên hoặc vùng Cλ dạng tự nhiên. Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng Cκ dạng tự nhiên ở người hoặc vùng Cλ ở người như được thể hiện trong SEQ ID NOS: 112 và 113, tương ứng, theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng CL biến đổi của globulin miễn dịch, như vùng Cκ hoặc Cλ biến đổi, ví dụ, vùng Cκ biến đổi ở người hoặc vùng Cλ ở người.

Theo các phương án nhất định, gốc xystein của vùng CL dạng tự nhiên (ví dụ, CL ở người), liên quan đến việc tạo ra liên kết đisunfua với vùng CH1 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch (ví dụ, CH1 của người), bị cắt bỏ hoặc được thế trong vùng CL biến đổi của globulin miễn dịch. Các vùng CL biến đổi như vậy có thể chứa thêm axit amin bị cắt bỏ tại các đầu amino của chúng. Vùng Cκ làm ví dụ được thể hiện trong SEQ ID NO: 141 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), trong đó arginin thứ nhất và xystein cuối cùng trong vùng Cκ dạng tự nhiên ở người là bị cắt bỏ cả hai. Theo các phương án nhất định, chỉ xystein cuối cùng của vùng Cκ dạng tự nhiên ở người bị cắt bỏ trong vùng Cκ biến đổi do arginin thứ nhất bị cắt bỏ từ vùng Cκ dạng tự nhiên ở người có thể được cung cấp bởi cầu nối mà có arginin tại đầu cacboxyl của nó và nối đầu amino của vùng Cκ biến đổi với vùng khác (ví dụ, miền phụ của globulin miễn dịch, như miền phụ chứa vùng CH2 và CH3

của globulin miễn dịch). Vùng Cλ làm ví dụ được thể hiện trong SEQ ID NO:140 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), trong đó arginin thứ nhất của vùng Cλ dạng tự nhiên ở người bị cắt bỏ và xystein liên quan đến việc tạo ra liên kết đisunfua với xystein trong vùng CH1 được thế bởi serin.

Theo các phương án khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng Cκ biến đổi mà chứa một hoặc nhiều axit amin thế, khi so với vùng Cκ dạng tự nhiên, tại các vị trí có thể liên quan đến việc tạo ra mạng lưới liên kết hyđro giữa chuỗi tại mặt tiếp xúc Cκ-Cκ. Ví dụ, theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng Cκ biến đổi ở người có một hoặc nhiều axit amin tại các vị trí N29, N30, Q52, V55, T56, S68 hoặc T70 được thế với axit amin khác. Các axit amin này được đánh số dựa trên vị trí của chúng trong trình tự Cκ biến đổi ở người như được thể hiện trong SEQ ID NO:141 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch là vùng Cκ biến đổi ở người có một, hai, ba hoặc bốn axit amin thế tại các vị trí N29, N30, V55, hoặc T70. Axit amin được sử dụng như axit amin thế tại các vị trí lưu ý trên đây có thể là alanin, hoặc gốc axit amin có nhóm chức mạch bên lớn như arginin, tryptophan, tyrosin, glutamat, glutamin, hoặc lysin. Các gốc axit amin bổ sung mà có thể được sử dụng để thế các gốc axit amin trong trình tự Cκ dạng tự nhiên ở người tại các vị trí lưu ý trên đây (ví dụ, N30) gồm có aspartat, metionin, serin và phenyalanin. Các vùng Cκ biến đổi làm ví dụ ở người được thể hiện trong SEQ ID NOS:142-178 theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Các vùng Cκ biến đổi ở người là các vùng mà làm dễ dàng quá trình đime hóa dị loại với vùng CH1, nhưng làm tối thiểu đồng đime hóa với vùng Cκ khác. Các vùng Cκ biến đổi đại diện ở người được thể hiện trong SEQ ID NOS:160 (N29W V55A T70A), 161 (N29Y V55A T70A), 202 (T70E N29A N30A

V55A), 167 (N30R V55A T70A), 168 (N30K V55A T70A), 170 (N30E V55A T70A), 172 (V55R N29A N30A), 175 (N29W N30Y V55A T70E), 176 (N29Y N30Y V55A T70E), 177 (N30E V55A T70E), 178 (N30Y V55A T70E), 838 (N30D V55A T70E), 839 (N30M V55A T70E), 840 (N30S V55A T70E), và 841 (N30F V55A T70E) theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, bổ sung hoặc lựa chọn các đột biến trong các vùng Cκ được mô tả ở đây, cả hai vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch (nghĩa là, các vùng CH1 và CL của globulin miễn dịch) của polypeptit dị đime có các đột biến sao cho các vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch hình thành tạo ra các cầu nối của muối (nghĩa là, các tương tác ion) giữa các gốc axit amin tại các vị trí bị đột biến. Ví dụ, các vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch của polypeptit dị đime có thể là vùng CH1 bị đột biến kết hợp với vùng Cκ bị đột biến. Trong vùng CH1 bị đột biến, valin tại vị trí 68 (V68) trong vùng CH1 dạng tự nhiên ở người được thế bởi gốc axit amin có điện tích âm (ví dụ, aspartat hoặc glutamat), trong khi lơxin tại vị trí 29 (L29) trong vùng Cκ bị đột biến ở người trong đó arginin thứ nhất và xystein cuối cùng bị cắt bỏ được thế bởi gốc axit amin có điện tích dương (ví dụ, lysin, arginin hoặc histiđin). Tương tác điện tích-điện tích giữa gốc axit amin có điện tích âm trong vùng CH1 bị đột biến tạo thành và gốc axit amin có điện tích dương trong vùng Cκ bị đột biến tạo thành tạo cầu nối của muối, mà làm ổn định mặt tiếp xúc dị đime giữa vùng CH1 và Cκ bị đột biến. Cách khác, V68 trong CH1 dạng tự nhiên có thể được thế bởi gốc axit amin có điện tích dương, trong khi L29 trong vùng Cκ bị đột biến ở người trong đó arginin thứ nhất và xystein cuối cùng bị cắt bỏ có thể được thế bởi gốc axit amin có điện tích âm. Các trình tự CH1 bị đột biến làm ví dụ trong đó V68 được thế bởi axit amin có điện tích âm hoặc điện tích dương được thể hiện trong SEQ ID NOS:844 và 845 theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện

dẫn). Các trình tự Cκ bị đột biến làm ví dụ trong đó L29 được thế bởi axit amin với có điện tích âm hoặc điện tích dương được thể hiện trong SEQ ID NOS:842 và 843 theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các vị trí khác V68 trong vùng CH1 ở người và L29 trong vùng Cκ ở người có thể được thế với các axit amin có điện tích đối nhau để tạo ra các tương tác ion giữa các axit amin bổ sung hoặc lựa chọn đối với các đột biến ở V68 trong vùng CH1 và L29 trong vùng Ck. Các vị trí như vậy có thể được nhận biết bằng phương pháp thích hợp bất kỳ, bao gồm gây đột biến ngẫu nhiên, phân tích cấu trúc tinh thể của cặp CH1-Ck để nhận biết các gốc axit amin tại mặt tiếp xúc CH1-Ck, và các vị trí nhận biết thích hợp khác trong số các gốc axit amin tại mặt tiếp xúc CH1-Ck bằng cách sử dụng tập hợp các tiêu chuẩn (ví dụ, xu hướng để hút các tương tác ion, trạng thái gần với gốc tương tác tiềm năng, v.v.).

Theo các phương án nhất định, các polypeptit dị đime theo sáng chế chỉ chứa một cặp vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Ví dụ, chuỗi thứ nhất của polypeptit dị đime có thể chứa vùng CH1 như vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch, trong khi chuỗi thứ hai có thể chứa vùng CL (ví dụ, Cκ hoặc Cλ) như vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Cách khác, chuỗi thứ nhất có thể chứa vùng CL (ví dụ, Cκ hoặc Cλ) như vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch, trong khi chuỗi thứ hai có thể chứa vùng CH1 như vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Như được trình bày ở đây, các vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch của chuỗi thứ nhất và chuỗi thứ hai có khả năng kết hợp để tạo ra protein dị đime theo sáng chế.

Theo các phương án nhất định khác, các protein dị đime theo sáng chế có thể có hai cặp vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch. Ví dụ, chuỗi thứ

nhất trong dị đime có thể chứa hai vùng CH1, trong khi chuỗi thứ hai có thể có hai vùng CL mà kết hợp với hai vùng CH1 trong chuỗi thứ nhất. Cách khác, chuỗi thứ nhất có thể chứa hai vùng CL, trong khi chuỗi thứ hai có thể có hai vùng CH1 mà kết hợp với hai vùng CL trong chuỗi thứ nhất. Theo các phương án nhất định, chuỗi polypeptit thứ nhất chứa vùng CH1 và vùng CL, trong khi chuỗi polypeptit thứ hai chứa vùng CL và vùng CH1 mà kết hợp với vùng CH1 và vùng CL, tương ứng, của chuỗi polypeptit thứ nhất.

Theo các phương án trong đó protein dị đime chỉ bao gồm một cặp đime hóa dị loại (nghĩa là, một vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi), vùng đime hóa dị loại trong globulin miễn dịch của mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu amino đối với vùng cố định của globulin miễn dịch của chuỗi đó. Cách khác, vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu cacboxyl đối với vùng cố định trong globulin miễn dịch của chuỗi đó.

Theo các phương án trong đó protein dị đime bao gồm hai cặp đime hóa dị loại (nghĩa là, hai vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi), cả hai vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu amino đối với vùng cố định của globulin miễn dịch ở chuỗi đó. Cách khác, cả hai vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu cacboxyl đối với vùng cố định của globulin miễn dịch ở chuỗi đó. Theo các phương án khác, một vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch trong mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu amino đối với vùng cố định của globulin miễn dịch ở chuỗi đó, trong khi vùng đime hóa dị loại khác của globulin miễn dịch ở mỗi chuỗi có thể nằm ở đầu cacboxyl đối với vùng cố định của globulin miễn dịch ở chuỗi đó. Cách khác, theo các phương án này, vùng cố định trong globulin miễn dịch đặt giữa hai vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch ở mỗi chuỗi.

Các vùng cố định của globulin miễn dịch

Như được biểu thị ở đây, theo các phương án nhất định, các polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế (ví dụ, các phân tử SMIP, PIMS, SCORPION, và phân tử chắn) chứa vùng cố định của globulin miễn dịch (cũng được dùng để chỉ như vùng cố định) ở mỗi chuỗi polypeptit. Thành phần của vùng cố định trong globulin miễn dịch làm chậm sự loại bỏ các protein đồng đime và dị đime được tạo ra từ hai chuỗi polypeptit liên kết PSMA ở hệ tuần hoàn sau khi dùng cho đối tượng. Bằng các đột biến hoặc các biến đổi khác, vùng cố định của globulin miễn dịch có thêm sự điều biến tương đối dễ về các chức năng phản ứng lại kích thích của polypeptit đime (ví dụ, ADCC, ADCP, CDC, cố định bổ thể, và liên kết với các thụ thể Fc), mà chức năng này có thể tăng hoặc giảm phụ thuộc vào bệnh đang được điều trị, như được biết trong nghiên cứu và được mô tả ở đây. Theo các phương án nhất định, vùng cố định của globulin miễn dịch của một hoặc cả hai chuỗi polypeptit trong các polypeptit đồng đime và các dị đime theo sáng chế có khả năng sản sinh một hoặc nhiều chức năng phản ứng lại kích thích Theo các phương án khác, một hoặc nhiều chức năng phản ứng lại kích thích này bị giảm hoặc không tồn tại trong vùng cố định của globulin miễn dịch ở một hoặc cả hai chuỗi polypeptit trong các polypeptit đồng đime và dị đime theo sáng chế, khi so với vùng cố định dạng tự nhiên của globulin miễn dịch tương ứng. Ví dụ, đối với các polypeptit đime liên kết PSMA được thiết kế để sản sinh RTCC, như, ví dụ, qua thành phần của vùng liên kết CD3, vùng cố định trong globulin miễn dịch ưu tiên làm giảm hoặc không có chức năng phản ứng lại kích thích tương đối so với vùng cố định dạng tự nhiên của globulin miễn dịch tương ứng.

Vùng cố định của globulin miễn dịch có mặt trong các polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế có thể chứa hoặc nhận được từ một phần hoặc tất cả vùng CH2, vùng CH3, vùng CH4, hoặc kết hợp bất kỳ của nó. Ví dụ, vùng cố định

của globulin miễn dịch có thể chứa vùng CH2, vùng CH3, cả hai vùng CH2 và CH3, cả hai vùng CH3 và CH4, hai vùng CH3, vùng CH4, hai vùng CH4, và vùng CH2 và một phần vùng CH3.

Vùng CH2 mà có thể tạo ra vùng cố định trong globulin miễn dịch của polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế có thể là vùng CH2 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch hoặc vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch của nó từ các nhóm hoặc các phân nhóm globulin miễn dịch nhất định (ví dụ, lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD) và từ các loài khác nhau (bao gồm người, chuột nhắt, chuột, và các động vật có vú khác).

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 là vùng CH2 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch ở người, như các vùng CH2 dạng tự nhiên của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, hoặc IgD ở người, như được thể hiện trong SEQ ID NOS:115, 199-201 và 195-197, tương ứng, theo Đơn PCT WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng CH2 là vùng CH2 dạng tự nhiên của IgG1 ở người như được thể hiện trong SEQ ID NO: 115 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 là vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) mà chứa axit amin thế tại asparagin có vị trí 297 (ví dụ, asparagin thành alanin). Thế axit amin như vậy làm giảm hoặc loại trừ glycosyl hóa tại vị trí này và loại bỏ có hiệu quả Fc liên kết với FcγR và C1q. Trình tự trong vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người có axit amin thế Asn thành Ala tại vị trí 297 được thể hiện trong SEQ ID NO:324 theo WO2011/090782 nói đến (trình tự được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 là vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) mà chứa ít nhất một axit amin thế hoặc bị cắt bỏ tại các vị trí 234 đến 238. Ví dụ, vùng CH2 của globulin miễn dịch có thể chứa axit amin thế tại vị trí 234, 235, 236, 237 hoặc 238, các vị trí 234 và 235, các vị trí 234 và 236, các vị trí 234 và 237, các vị trí 234 và 238, các vị trí 234-236, các vị trí 234, 235 và 237, các vị trí 234, 236 và 238, các vị trí 234, 235, 237, và 238, các vị trí 236-238, hoặc kết hợp bất kỳ khác của hai, ba, bốn, hoặc năm axit amin tại các vị trí 234-238. Ngoài ra hoặc cách khác, vùng CH2 biến đổi có thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, hai, ba, bốn hoặc năm) axit amin bị cắt bỏ tại các vị trí 234-238, ví dụ, tại một trong số vị trí 236 hoặc vị trí 237 trong khi axit amin ở vị trí khác được thế. (Các) đột biến được lưu ý trên đây làm giảm hoặc loại trừ hoạt tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) hoặc khả năng liên kết thụ thể Fc của polypeptit dị đime mà chứa vùng CH2 biến đổi. Theo các phương án nhất định, các gốc axit amin tại một hoặc nhiều vị trí 234-238 được thay thế với một hoặc nhiều gốc alanin. Theo các phương án khác, chỉ một trong số các gốc axit amin tại các vị trí 234-238 bị cắt bỏ trong khi một hoặc nhiều axit amin còn lại tại các vị trí 234-238 có thể được thế với axit amin khác (ví dụ, alanin hoặc serin).

Theo các phương án nhất định khác, vùng CH2 là vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) mà chứa một hoặc nhiều axit amin thế tại các vị trí 253, 310, 318, 320, 322, và 331. Ví dụ, vùng CH2 của globulin miễn dịch có thể chứa axit amin thế tại vị trí 253, 310, 318, 320, 322, hoặc 331, các vị trí 318 và 320, các vị trí 318 và 322, các vị trí 318, 320 và 322, hoặc kết hợp bất kỳ khác của hai, ba, bốn, năm hoặc sáu axit amin tại các vị trí 253, 310, 318, 320, 322, và 331. (Các) đột biến được lưu ý trên đây làm giảm hoặc loại trừ tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) của polypeptit dị đime mà chứa vùng CH2 biến đổi.

Theo các phương án nhất định khác, ngoài axit amin thế tại vị trí 297, vùng CH2 biến đổi (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) có thể chứa thêm một hoặc nhiều (ví dụ, hai, ba, bốn, hoặc năm) axit amin thế bổ sung tại các vị trí 234-238. Ví dụ, vùng CH2 của globulin miễn dịch có thể chứa axit amin thế tại các vị trí 234 và 297, các vị trí 234, 235, và 297, các vị trí 234, 236 và 297, các vị trí 234-236 và 297, các vị trí 234, 235, 237 và 297, các vị trí 234, 236, 238 và 297, các vị trí 234, 235, 237, 238 và 297, các vị trí 236-238 và 297, hoặc kết hợp bất kỳ của hai, ba, bốn, hoặc năm axit amin tại các vị trí 234-238 ngoài vị trí 297. Ngoài ra hoặc cách khác, vùng CH2 biến đổi có thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, hai, ba, bốn hoặc năm) axit amin bị cắt bỏ tại các vị trí 234-238, như tại vị trí 236 hoặc vị trí 237. (Các) đột biến bổ sung làm giảm hoặc loại trừ hoạt tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) hoặc khả năng liên kết thụ thể Fc của polypeptit dị đime mà chứa vùng CH2 biến đổi. Theo các phương án nhất định, các gốc axit amin tại một hoặc nhiều vị trí 234-238 được thay thế với một hoặc nhiều gốc alanin. Theo các phương án khác, chỉ một trong số các gốc axit amin tại các vị trí 234-238 bị cắt bỏ trong khi một hoặc nhiều axit amin còn lại tại các vị trí 234-238 có thể được thế với axit amin khác (ví dụ, alanin hoặc serin).

Theo các phương án nhất định, ngoài một hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, hoặc 5) axit amin thế tại các vị trí 234-238, vùng CH2 đột biến (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) trong protein dung hợp theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, hoặc 6) axit amin thế bổ sung (ví dụ, thế với alanin) tại một hoặc nhiều vị trí liên quan đến cố định bổ thể (ví dụ, tại các vị trí I253, H310, E318, K320, K322, hoặc P331). Các ví dụ về các miền CH2 đột biến của globulin miễn dịch bao gồm các miền CH2 của lgG1, lgG2, lgG4 ở người và các miền CH2 của lgG2a ở chuột có các alanin thế tại các vị trí 234, 235, 237 (nếu tồn tại), 318, 320 và 322. Vùng CH2 bị đột biến làm ví dụ của

globulin miễn dịch là vùng CH2 của IGHG2c ở chuột có các alanin thế tại L234, L235, G237, E318, K320, và K322.

Theo các phương án vẫn khác, ngoài axit amin thế tại vị trí 297 và (các) axit amin bị cắt bỏ bổ sung hoặc (các) axit amin thế tại các vị trí 234-238, vùng CH2 biến đổi (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) có thể chứa thêm một hoặc nhiều (ví dụ, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu) axit amin thế bổ sung tại các vị trí 253, 310, 318, 320, 322, và 331. Ví dụ, vùng CH2 của globulin miễn dịch có thể chứa (1) axit amin thế tại vị trí 297, (2) một hoặc nhiều axit amin thế hoặc axit amin bị cắt bỏ hoặc kết hợp của nó tại các vị trí 234-238, và một hoặc nhiều (ví dụ,2, 3, 4, 5, hoặc 6) axit amin thế tại các vị trí I253, H310, E318, K320, K322, và P331, như thế một, hai, ba axit amin tại các vị trí E318, K320 và K322. Các axit amin tại các vị trí lưu ý trên đây có thể được thế bởi alanin hoặc serin.

Theo các phương án nhất định, polypeptit vùng CH2 của globulin miễn dịch chứa: (i) axit amin thế tại asparagin có vị trí 297 và một axit amin thế tại vị trí 234, 235, 236 hoặc 237; (ii) axit amin thế tại asparagin có vị trí 297 và axit amin thế tại hai trong số các vị trí 234-237; (iii) axit amin thế tại asparagin có vị trí 297 và axit amin thế tại ba trong số các vị trí 234-237; (iv) axit amin thế tại asparagin có vị trí 297, axit amin thế tại các vị trí 234, 235 và 237, và axit amin bị cắt bỏ tại vị trí 236; (v) axit amin thế tại ba trong số các vị trí 234-237 và axit amin thế tại các vị trí 318, 320 và 322; hoặc (vi) axit amin thế tại ba trong số các vị trí 234-237, axit amin bị cắt bỏ tại vị trí 236, và axit amin thế tại các vị trí 318, 320 và 322.

Các miền CH2 biến đổi làm ví dụ của globulin miễn dịch có axit amin thế tại asparagin có vị trí 297 chứa: miền CH2 của IgG1 ở người có các alanin thế tại L234, L235, G237 và N297 và bị cắt bỏ tại G236 (SEQ ID NO:325 theo

WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), miền CH2 của IgG2 ở người có các alanin thế tại V234, G236, và N297 (SEQ ID NO:326 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), miền CH2 của IgG4 ở người có alanin thế tại F234, L235, G237 và N297 và bị cắt bỏ G236 (SEQ ID NO:322 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), miền CH2 của IgG4 ở người có alanin thế tại F234 và N297 (SEQ ID NO:343 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), miền CH2 của IgG4 ở người có alanin thế tại L235 và N297 (SEQ ID NQ:344 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), miền CH2 của IgG4 ở người có alanin thế tại G238 và N297 (SEQ ID NO:345 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), và miền CH2 của IgG4 ở người có alanin thế tại G237 và N297 (SEQ ID NG:346 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, ngoài axit amin thế được mô tả trên đây, vùng CH2 biến đổi (ví dụ, vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người) có thể chứa một hoặc nhiều axit amin thế bổ sung tại một hoặc nhiều vị trí khác các vị trí được lưu ý trên đây. Thế các axit amin như vậy có thể là thế axit amin bảo toàn hoặc thế axit amin không bảo toàn. Ví dụ, theo các phương án nhất định, P233 có thể được biến đổi thành E233 trong vùng CH2 biến đổi của IgG2 (xem, ví dụ, SEQ ID NO:326 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Ngoài ra hoặc cách khác, theo các phương án nhất định, vùng CH2 biến đổi có thể chứa một hoặc nhiều axit amin thêm vào, cắt bỏ, hoặc cả hai. (Các) axit amin thêm vào, (các) axit amin bị cắt bỏ hoặc (các) axit amin thế có thể ở vị trí bất kỳ trong vùng CH2 của globulin miễn dịch, như tại đầu N hoặc đầu C của vùng CH2 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch được tạo ra do nối miền CH2 này với miền khác (ví dụ, vùng liên kết hoặc vùng đime hóa dị loại của globulin miễn dịch) qua khớp nối.

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 biến đổi trong polypeptit theo sáng chế chứa vùng hoặc là trình tự mà ít nhất là 90%, ít nhất là 91%, ít nhất là 92%, ít nhất là 93%, ít nhất là 94%, ít nhất là 95%, ít nhất là 96%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, ít nhất là 99% giống hệt với vùng CH2 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch, như miền CH2 của lgG1, lgG2, hoặc lgG4 dạng tự nhiên ở người, hoặc lgG2a ở chuột (ví dụ, IGHG2c).

Vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch trong polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế có thể được nhận được từ miền CH2 của các lớp globulin miễn dịch khác nhau, như IgG1, lgG2, lgG3, lgG4, IgA1, lgA2, và IgD, từ các loài khác nhau (bao gồm người, chuột nhắt, chuột, và các động vật có vú khác). Theo các phương án nhất định, vùng CH2 biến đổi của globulin miễn dịch trong protein dung hợp theo sáng chế có thể nhận được từ miền CH2 của lgG1, lgG2 hoặc IgG4 ở người, hoặc lgG2a ở chuột (ví dụ, IGHG2c), các trình tự của nó được thể hiện trong SEQ ID NOS: 1 5, 199, 201 và 320 theo WO2011/090782 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 biến đổi là vùng CH2 của IgG1 ở người có alanin thế tại các vị trí 235, 318, 320, và 322 (nghĩa là, vùng CH2 của IgG1 ở người có các axit amin thế L235A, E318A, K320A và K322A) (SEQ ID NO:595 theo WO2011/090782, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), và tùy ý đột biến N297 (ví dụ, thành alanin). Theo các phương án nhất định khác, vùng CH2 biến đổi là vùng CH2 của IgG1 ở người có alanin thế tại các vị trí 234, 235, 237, 318, 320 và 322 (nghĩa là, vùng CH2 của IgG1 ở người có các axit amin thế L234A, L235A, G237A, E318A, K320A và K322A) (SEQ ID NO:596 theo WO2011/090762, trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn), và tùy ý đột biến N297 (ví dụ, thành alanin).

Theo các phương án nhất định, vùng CH2 biến đổi là vùng CH2 biến đổi của IgG1 ở người có các đột biến được biết trong nghiên cứu mà tăng cường các hoạt tính miễn dịch như ADCC, ADCP, CDC, cố định bổ thể, liên kết thụ thể Fc, hoặc kết hợp bất kỳ của nó.

Vùng CH3 mà có thể tạo ra vùng cố định của globulin miễn dịch trong polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế có thể là vùng CH3 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch hoặc vùng CH3 biến đổi của globulin miễn dịch của nó từ các nhóm hoặc các phân nhóm globulin miễn dịch nhất định (ví dụ, lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, IgM) của các loài khác nhau (bao gồm người, chuột nhắt, chuột, và các động vật có vú khác). Theo các phương án nhất định, vùng CH3 là vùng CH3 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch ở người, như các vùng CH3 dạng tự nhiên của lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM ở người như được thể hiện trong các SEQ ID NO:116, 208-210, 204-207, và 212, tương ứng theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng CH3 là vùng CH3 dạng tự nhiên của IgG1 ở người như được thể hiện trong SEQ ID NO: 116 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng CH3 là vùng CH3 biến đổi của globulin miễn dịch ở người, như vùng CH3 biến đổi dựa trên hoặc nhận được từ vùng CH3 dạng tự nhiên của các kháng thể lgG1, lgG2, lgG3, lgG4, lgA1, lgA2, IgD, IgE, hoặc IgM ở người. Ví dụ, vùng CH3 biến đổi có thể là vùng CH3 của IgG1 ở người có một hoặc hai đột biến tại vị trí H433 và N434 (các vị trí được đánh số theo hệ thống đánh số EU). Đột biến ở các vị trí như vậy có thể liên quan đến việc cố định bổ thể. Theo các phương án nhất định khác, vùng CH3 biến đổi có thể là vùng CH3 của IgG1 ở người nhưng có một hoặc hai axit amin thế tại vị trí F405 hoặc Y407. Các axit amin tại các vị trí như vậy liên quan đến việc tương tác với vùng CH3 khác. Theo các phương án nhất định, vùng CH3 biến đổi có thể là vùng CH3 biến đổi của IgG1 ở người có lysin cuối

của nó bị cắt bỏ. Trình tự của vùng CH3 biến đổi này được thể hiện trong SEQ ID NO:761 theo WO2011/090762 (trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, các polypeptit liên kết PSMA tạo ra polypeptit dị đime chứa cặp CH3 mà chứa các đột biến như thế gọi là "các đồi trong các lỗ, knobs-into-holes" (xem, Marvin and Zhu, Acta Pharmacologica Sinica 26:649-58, 2005; Ridgway et al., Protein Engineering 9:617-21, 1966). Cụ thể hơn, các đột biến có thể được đưa vào mỗi vùng trong số hai vùng CH3 của mỗi chuỗi polypeptit sao cho bổ sung không gian đòi hỏi đối với kết hợp CH3/CH3 để bắt buộc hai vùng CH3 này bắt cặp với nhau. Ví dụ, vùng CH3 trong một polypeptit chuỗi đơn của polypeptit dị đime có thể chứa đột biến T366W (đột biến "đồi", mà thế axit amin nhỏ bởi một axit amin lớn hơn), và vùng CH3 trong polypeptit chuỗi đơn khác của polypeptit dị đime này có thể chứa đột biến Y407A (đột biến "lỗ", mà thế axit amin lớn bởi một axit amin nhỏ hơn). Các đột biến “các đồi trong các lỗ” làm ví dụ khác bao gồm (1) đột biến T366Y trong một vùng CH3 và Y407T trong vùng CH3 khác, và (2) đột biến T366W trong một vùng CH3 và các đột biến T366S, L368A và Y407V trong vùng CH3 khác.

Vùng CH4 mà có thể tạo ra vùng cố định trong globulin miễn dịch của các polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế có thể là vùng CH4 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch hoặc vùng CH4 biến đổi của globulin miễn dịch của nó từ các phân tử IgE hoặc IgM. Theo các phương án nhất định, vùng CH4 là vùng CH4 dạng tự nhiên của globulin miễn dịch ở người, như các vùng CH4 dạng tự nhiên của các phân tử IgE và IgM ở người như được thể hiện trong SEQ ID NOS:213 và 214, tương ứng, theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án nhất định, vùng CH4 là vùng CH4 biến đổi của globulin miễn dịch ở người, như vùng CH4 biến đổi dựa

trên hoặc nhận được từ vùng CH4 của các phân tử IgE và IgM ở người, có các đột biến làm tăng hoặc làm giảm hoạt tính miễn dịch mà được biết là có liên quan đến vùng Fc của IgE hoặc IgM.

Theo các phương án nhất định, vùng cố định trong globulin miễn dịch của các polypeptit liên kết PSMA theo sáng chế chứa các vùng CH2, CH3 hoặc CH4 kết hợp (nghĩa là, nhiều hơn một vùng miền cố định được chọn từ CH2, CH3 và CH4). Ví dụ, vùng cố định trong globulin miễn dịch có thể chứa các vùng CH2 và CH3 hoặc các vùng CH3 và CH4. Theo các phương án nhất định khác, vùng cố định trong globulin miễn dịch có thể chứa hai vùng CH3 và không có vùng CH2 hoặc vùng CH4 (nghĩa là, chỉ hai hoặc nhiều vùng CH3). Nhiều vùng miền cố định mà tạo ra vùng cố định trong globulin miễn dịch có thể dựa trên hoặc nhận được từ cùng phân tử globulin miễn dịch, cùng lớp hoặc cùng phân lớp phân tử globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, vùng cố định trong globulin miễn dịch là CH2CH3 của IgG (ví dụ, CH2CH3 của IgG1, CH2CH3 của lgG2, và CH2CH3 của IgG4) và có thể là CH2CH3 ở người (ví dụ, IgG1, IgG2, và IgG4 ở người). Ví dụ, theo các phương án nhất định, vùng cố định trong globulin miễn dịch chứa (1) các vùng CH2 và CH3 dạng tự nhiên của IgG1 ở người, (2) CH2 của IgG1 ở người có axit amin thế N297 (nghĩa là, CH2(N297A)) và CH3 dạng tự nhiên của IgG1 ở người, hoặc (3) CH2(N297A) của IgG1 ở người và CH3 biến đổi của IgG1 ở người có lysin cuối bị cắt bỏ.

Cách khác, nhiều vùng miền cố định có thể dựa trên hoặc nhận được từ các phân tử globulin miễn dịch khác nhau, các lớp hoặc các phân lớp phân tử globulin miễn dịch khác nhau. Ví dụ, theo các phương án nhất định, vùng cố định trong globulin miễn dịch chứa cả vùng CH3 của IgM ở người và vùng CH3 của IgG1 ở người. Nhiều vùng miền cố định mà tạo ra vùng cố định trong

globulin miễn dịch có thể nối trực tiếp với nhau hoặc có thể được nối với nhau qua một hoặc nhiều (ví dụ, khoảng 2-10) axit amin.

Các vùng cố định làm ví dụ của globulin miễn dịch được thể hiện trong các SEQ ID NO:305-309, 321, 323, 341, 342, và 762 theo WO2011/090762 (các trình tự nói đến được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án nhất định, các vùng cố định trong globulin miễn dịch của polypeptit liên kết PSMA của cả polypeptit đồng đime hoặc dị đime là giống hệt nhau. Theo các phương án nhất định khác, vùng cố định trong globulin miễn dịch của một chuỗi polypeptit trong protein dị đime là khác với vùng cố định trong globulin miễn dịch của chuỗi polypeptit khác trong dị đime này. Ví dụ, một vùng cố định trong globulin miễn dịch của protein dị đime có thể chứa vùng CH3 có đột biến"đồi", trong khi vùng cố định khác trong globulin miễn dịch của protein dị đime có thể chứa vùng CH3 có đột biến "lỗ".

Axit nucleic, tế bào chủ, và phương pháp tạo ra

Sáng chế cũng bao gồm các axit nucleic (ví dụ, ADN hoặc ARN) mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA như được mô tả ở đây, một hoặc nhiều chuỗi polypeptit trong protein đime liên kết PSMA hoặc protein dị đime liên kết PSMA như được mô tả ở đây. Các axit nucleic theo sáng chế bao gồm các axit nucleic có miền mà về cơ bản giống hệt với polynucleotit như được liệt kê trong bảng 3, sau đây. Theo các phương án nhất định, axit nucleic theo sáng chế có ít nhất là 80%, cụ thể ít nhất là khoảng 90%, và cụ thể hơn ít nhất là khoảng 95% hoặc ít nhất là khoảng 98% giống hệt polynucleotit mã hóa cho polypeptit như được liệt kê trong bảng 3. Các axit nucleic theo sáng chế cũng chứa các axit nucleic bổ sung. Theo một số trường hợp, các trình tự sẽ là bổ sung hoàn toàn (không có sự ghép đôi không được) khi được sắp xếp thẳng hàng. Theo các trường hợp khác, có thể có đến khoảng 20% không ghép đôi được trong trình tự.

Theo một số phương án của sáng chế các axit nucleic mã hóa cho cả chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai của protein dị đime liên kết PSMA theo sáng chế được cung cấp. Trình tự các axit nucleic cung cấp ở đây có thể được khai thác bằng cách sử dụng mã tối ưu hóa, trình tự thoái hóa, các đột biến câm, và các kỹ thuật ADN khác để tối ưu hóa biểu hiện ở vật chủ cụ thể, và sáng chế bao gồm các cải biến trình tự như vậy.

Các phân tử polynucleotit chứa trình tự polynucleotit mong muốn được sản sinh bằng cách đặt phân tử này vào vectơ. Các vectơ virut và vectơ không phải của virut được sử dụng, bao gồm các plasmit. Plasmit lựa chọn sẽ phụ thuộc vào dạng tế bào trong đó sự sản sinh là mong muốn và phụ thuộc vào mục đích của sự sản sinh này. Các vectơ nhất định là hữu ích để khuếch đại và tạo ra các trình tự ADN mong muốn với lượng lớn. Các vectơ khác là thích hợp để biểu hiện ở các tế bào nuôi cấy. Các vectơ vẫn còn khác là thích hợp để chuyển và biểu hiện trong các tế bào ở toàn bộ động vật hoặc ở người. Lựa chọn vectơ thích hợp là đã rõ trong kỹ năng nghiên cứu. Nhiều vectơ như vậy có bán sẵn. Polynucleotit một phần hoặc có độ dài đầy đủ được chèn vào vector cụ thể bởi DNA ligaza gắn vào vị trí enzym giới hạn được cắt ở vector này. Cách khác, trình tự nucleotit mong muốn có thể được chèn vào bằng cách tái tổ hợp tương đồng *in vivo*. Cụ thể là điều này đạt được bằng cách gắn các miền tương đồng đối với vectơ trên trình tự kéo dài hai phía của trình tự nucleotit mong muốn. Các miền tương đồng được thêm vào bằng cách nối các oligonucleotit, hoặc bằng phản ứng chuỗi polymeraza bằng cách sử dụng các mồi chứa cả miền tương đồng và phần trình tự nucleotit mong muốn, ví dụ.

Để biểu hiện, đoạn có chức năng biểu hiện hoặc hệ biểu hiện có thể được sử dụng. Để biểu hiện axit nucleic mã hóa cho polypeptit được bộc lộ ở đây, phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit này, được nối theo cách có thể hoạt động được với các trình tự điều khiển mà kiểm soát biểu hiện phiên mã ở vectơ

biểu hiện, được đưa vào tế bào chủ. Ngoài các trình tự điều khiển phiên mã, như các vùng khởi đầu phiên mã và các đoạn tăng cường, các vectơ biểu hiện có thể bao gồm các trình tự điều khiển dịch mã và gen dấu chuẩn thích hợp để chọn lọc các tế bào mang vectơ biểu hiện. Sản phẩm gen được mã hóa bởi polynucleotit theo sáng chế biểu hiện ở hệ biểu hiện thông dụng bất kỳ, bao gồm, ví dụ, hệ vi khuẩn, hệ nấm men, hệ côn trùng, hệ động vật lưỡng cư và hệ động vật có vú. Trong vectơ biểu hiện, polynucleotit mã hóa cho polypeptit được nối với trình tự điều khiển theo cách thích hợp để thu được các tính chất biểu hiện mong muốn. Các trình tự này có thể bao gồm các vùng khởi đầu phiên mã, các đoạn tăng cường, các vùng kết thúc phiên mã, các trình tự kiểm soát tiêu cực ở gen, các trình tự kìm hãm, và các trình tự cảm ứng. Các vùng khởi đầu phiên mã có thể được điều khiển (ví dụ, vùng khởi đầu phiên mã từ vectơ pIND cảm ứng steroid (Invitrogen)) hoặc vùng khởi đầu phiên mã liên tục (ví dụ, các vùng khởi đầu phiên mã của CMV, SV40, yếu tố kéo dài, hoặc các trình tự LTR). Các trình tự này được nối với trình tự nucleotit mong muốn bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trên đây để nối vào các vectơ. Các kỹ thuật bất kỳ được biết trong nghiên cứu có thể được sử dụng. Do đó, vectơ biểu hiện nói chung sẽ cung cấp miền khởi đầu phiên mã và dịch mã, mà có thể được cảm ứng hoặc liên tục, trong đó miền mã hóa được nối theo cách có thể hoạt động được dưới sự kiểm soát phiên mã của miền khởi đầu phiên mã, và miền kết thúc phiên mã và dịch mã.

Đoạn có chức năng biểu hiện ("đơn vị biểu hiện") có thể được đưa vào một loạt các vectơ, ví dụ, plasmit, BAC, YAC, thể thực khuẩn lây nhiễm vi khuẩn như lambda, P1, M13, v.v., các vectơ virut đối với thực vật hoặc động vật (ví dụ, các vectơ dựa trên retrovirut, các vectơ adenovirut), và tương tự, trong đó các vectơ thường được đặc trưng bởi khả năng cung cấp sự chọn lọc các tế bào chứa các vectơ biểu hiện. Các vectơ có thể cung cấp để duy trì nhiễm sắc thể nhiều hơn, cụ thể như các plasmit hoặc virut, hoặc để cài nhập vào nhiễm

sắc thể vật chủ. Khi mong muốn duy trì nhiều nhiễm sắc thể hơn, trình tự tâm tái bản được cung cấp để sao chép plasmit mà plasmid có thể có số bản sao chép thấp hoặc cao. Hàng loạt các dấu chuẩn là có sẵn để chọn lọc, cụ thể là các dấu chuẩn bảo vệ kháng các chất độc, cụ thể hơn là kháng các kháng sinh. Dấu chuẩn cụ thể lựa chọn là được chọn phù hợp với bản chất của tế bào chủ, trong đó trong một số trường hợp, sự bổ sung có thể được sử dụng cho vật chủ dinh dưỡng thụ động. Việc đưa cấu trúc ADN có thể sử dụng phương pháp thông dụng bất kỳ, bao gồm, ví dụ, tiếp hợp, biến nạp ở vi khuẩn, tủa ADN bởi canxi, xung điện, dung hợp, chuyển nhiễm, lây nhiễm với các vectơ virut, súng bắn gen, và tương tự.

Do đó, các protein sử dụng theo sáng chế có thể được tạo ra trong các tế bào chủ biến đổi về mặt di truyền theo các kỹ thuật thông dụng. Các tế bào chủ thích hợp là các dạng tế bào mà có thể được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm với ADN ngoại sinh và được phát triển khi nuôi cấy, và bao gồm các tế bào vi khuẩn, các tế bào nấm men và các tế bào nhân thật bậc cao được nuôi cấy (bao gồm các tế bào nuôi cấy của các sinh vật đa bào), cụ thể là các tế bào nuôi cấy của động vật có vú. Các kỹ thuật thao tác các phân tử ADN nhân dòng và đưa ADN ngoại sinh vào một loạt các tế bào chủ được bộc lộ theo Sambrook và Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001), và Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology (4th ed., John Wiley & Sons, 1999).

Ví dụ, để biểu hiện protein đồng đime tái tổ hợp liên kết PSMA chứa hai polypeptit giống hệt liên kết PSMA như được mô tả ở đây, nói chung vectơ biểu hiện sẽ chứa đoạn axit nucleic mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA, được nối theo cách có thể hoạt động được với vùng khởi đầu phiên mã. Để biểu hiện protein dị đime tái tổ hợp liên kết PSMA, chứa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai khác nhau, chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi

polypeptit thứ hai có thể cùng được biểu hiện từ các vectơ riêng biệt ở tế bào chủ để biểu hiện toàn bộ protein dị đime. Cách khác, để biểu hiện các protein dị đime liên kết PSMA, chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai cùng được biểu hiện từ các đơn vị biểu hiện riêng biệt trong cùng vectơ ở tế bào chủ để biểu hiện toàn bộ protein dị đime. (Các) vectơ biểu hiện chuyển vào tế bào chủ bằng các kỹ thuật thông dụng, và các tế bào chuyển nhiễm sau đó được nuôi cấy bằng cách các kỹ thuật thông dụng để tạo ra (các) polypeptit được mã hóa để tạo ra protein liên kết PSMA tương ứng.

Để hướng protein tái tổ hợp theo đường tiết ở tế bào chủ, trình tự tín hiệu tiết (cũng được biết như trình tự dẫn) được cung cấp trong vectơ biểu hiện. Trình tự tín hiệu tiết có thể là trình tự dạng tự nhiên của protein tái tổ hợp, hoặc có thể nhận được từ protein tiết khác hoặc được tổng hợp *de novo*. Trình tự tín hiệu tiết được nối theo cách có thể hoạt động được với trình tự ADN mã hóa cho polypeptit, nghĩa là, hai trình tự được nối với nhau theo đúng khung đọc mở và có vị trí để hướng polypeptit mới được tổng hợp này vào đường tiết ở tế bào chủ. Các trình tự tín hiệu tiết thường có vị trí ở 5' đối với trình tự ADN mã hóa cho polypeptit quan tâm, mặc dù các trình tự tín hiệu nhất định có thể có vị trí khác trong trình tự ADN quan tâm (xem, ví dụ, Welch et al., Paten US No. 5,037,743; Holland et al., Paten US No. 5, 143,830). Theo các biến đổi nhất định, trình tự tín hiệu tiết để sử dụng theo sáng chế có trình tự axit amin MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:85).

Các tế bào nuôi cấy ở động vật có vú là các tế bào chủ thích hợp nhằm tạo ra các protein tái tổ hợp để sử dụng theo sáng chế. Các phương pháp để đưa ADN ngoại sinh vào các tế bào chủ ở động vật có vú bao gồm chuyển nhiễm được tạo ra do canxi phosphat (Wigler et al., Cell 14:725, 1978; Corsaro and Pearson, Somatic Cell Genetics 7:603, 1981: Graham and Van der Eb, Virology 52:456, 1973), xung điện (Neumann et al., EMBO J. 1:841-845, 1982), chuyển

nhiễm được tạo ra do DEAE-dextran (Ausubel et al., ở trên), và chuyển nhiễm được tạo ra do liposom (Hawley-Nelson et al., Focus 15:73, 1993; Ciccarone et al., Focus 15:80, 1993). Việc tạo ra các polypeptit tái tổ hợp ở các tế bào nuôi cấy của động vật có vú được bộc lộ theo, ví dụ, Levinson et al., Paten US No. 4,713,339; Hagen et al., Paten US No. 4,784,950; Palmiter et al., Paten US No. 4,579,821; và Ringold, Paten US No. 4,656,134. Các ví dụ về các tế bào chủ thích hợp ở động vật có vú bao gồm các tế bào thận của khỉ xanh châu Phi (Vero; ATCC CRL 1587), các tế bào thận của phôi người (293-HEK; ATCC CRL 1573), các tế bào thận ở chuột đồng mới sinh (BHK-21, BHK-570; ATCC CRL 8544, ATCC CRL 10314), các tế bào thận của chó (MDCK; ATCC CCL 34), các tế bào buồng trứng ở chuột đồng Trung Quốc (CHO-K1; ATCC CCL61; CHO DG44; CHO DXB11 (Hyclone, Logan, UT); cũng xem, ví dụ, Chasin et al., Som. Cell. Molec. Genet. 12:555, 1986), các tế bào tuyến yên ở chuột (GH1; ATCC CCL82), các tế bào HeLa S3 (ATCC CCL2.2), các tế bào khối u ung thư gan ở chuột (H-4-II-E; ATCC CRL 1548) các tế bào thận của khỉ được biến nạp với SV40 (COS-1; ATCC CRL 1650) và các tế bào phôi ở chuột (NIH-3T3; ATCC CRL 1658). Các dòng tế bào thích hợp bổ sung là được biết trong nghiên cứu và có sẵn từ các nơi cất giữ chung như Bảo tàng giống chuẩn Mỹ, Manassas, Virginia. Các vùng khởi đầu phiên mã mạnh có thể được sử dụng, như các vùng khởi đầu phiên mã của SV-40 hoặc virut cự bào. Xem, ví dụ, paten US No. 4,956,288. Các vùng khởi đầu phiên mã thích hợp khác bao gồm các vùng khởi đầu phiên mã của các gen metallotionein (các paten U.S. No. 4,579,821 và 4,601 ,978) và vùng khởi đầu phiên mã chậm chính của adenovirut.

Chọn lọc theo thuốc nói chung là được sử dụng để tuyển chọn các tế bào nuôi cấy ở động vật có vú trong đó ADN lạ được chèn vào. Các tế bào như vậy thường được dùng để chỉ như "các thể chuyển nạp". Các tế bào được nuôi cấy khi có mặt chất chọn lọc và có thể chuyển gen quan tâm đến các thế hệ của

chúng được dùng để chỉ như "các thể chuyển nạp bền vững". Các dấu chuẩn có thể chọn lọc làm ví dụ bao gồm gen mã hóa cho tính kháng kháng sinh neomyxin, mà cho phép chọn lọc khi có mặt thuốc dạng neomyxin, như G-418 hoặc tương tự; gen gpt đối với xantin-guanin phosphoribosyl transferaza, mà cho phép tế bào chủ phát triển khi có mặt axit mycophenolic/xantin; và các dấu chuẩn cung cấp tính kháng zeoxin, bleomyxin, blastoxidin, và hygromyxin (xem, ví dụ, Gatignol et al., Mol. Gen. Genet. 207:342, 1987; Drocourt et al., Nucl. Acids Res. 18:4009, 1990). Các hệ chọn lọc có thể cũng được sử dụng để làm tăng mức biểu hiện của gen quan tâm, quá trình này được dùng để chỉ như "sự khuếch đại". Sự khuếch đại được thực hiện bằng cách nuôi cấy các thể chuyển nạp khi có mặt chất chọn lọc ở mức thấp và sau đó tăng lượng chất chọn lọc để tuyển chọn các tế bào mà sản sinh các sản phẩm của các gen đưa vào ở mức cao. Dấu chuẩn có thể khuếch đại chọn lọc làm ví dụ là đihyđrofolat reductaza, mà tạo ra tính kháng metotrexat. Các gen kháng thuốc khác (ví dụ, kháng hygromyxin, kháng đa thuốc, puromyxin axetyltransferaza) có thể cũng được sử dụng.

Các tế bào nhân thực bậc cao khác có thể cũng được sử dụng như các tế bào chủ, bao gồm các tế bào côn trùng, các tế bào thực vật và các tế bào ở chim. Sử dụng Agrobacterium rhizogenes như vector để biểu hiện các gen trong các tế bào thực vật được xem xét bởi Sinkar et al., J. Biosci. (Bangalore) 11:47-58, 1987. Sự biến nạp vào các tế bào côn trùng và tạo ra các polypeptit lạ trong đó được bộc lộ theo Guarino et al., Paten US No. 5,162,222 và đơn WIPO WO 94/06463.

Các tế bào côn trùng có thể bị lây nhiễm với baculovirut tái tổ hợp, thường nhận được từ virut đa diện nhân Autographa californica (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus, AcNPV). Xem King and Possee, The Baculovirus Expression System: A Laboratory Guide (Chapman & Hall,

London); O'Reilly et al., Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual (Oxford University Press., New York 1994); và Baculovirus Expression Protocols. Methods in Molecular Biology (Richardson ed., Humana Press, Totowa, NJ, 1995). Baculovirut tái tổ hợp có thể cũng được tạo ra qua sử dụng hệ dựa trên transposon được mô tả bởi Luckow et al. (J. Virol. 67:4566-4579, 1993). Hệ này, sử dụng các vectơ chuyển, là có bán sẵn ở dạng kit (BAC-TO-BAC kit; Life Technologies, Gaithersburg, MD). Vectơ chuyển (ví dụ, PFASTBAC1; Life Technologies) chứa transposon Tn7 để chuyển ADN mã hóa cho protein quan tâm vào hệ gen baculovirut được duy trì trong E coli như plasmit lớn được gọi là "bacmit." Xem Hill-Perkins and Possee, J. Gen. Virol. 71:971-976, 1990; Bonning et al., J. Gen. Virol. 75:1551-1556, 1994; và Chazenbalk and Rapoport, J. Biol. Chem. 270:1543-1549, 1995. Ngoài ra, các vectơ chuyển có thể chứa sự dung hợp đúng khung với ADN mã hóa cho phần kéo dài của polypeptit hoặc đuôi ái lực như được bộc lộ trên đây. Bằng cách sử dụng các kỹ thuật được biết trong nghiên cứu, vectơ chuyển chứa trình tự ADN mã hóa cho protein được biến nạp vào các tế bào chủ E coli, và các tế bào này được sàng lọc đối với các bacmit mà chứa gen lacZ bị phá vỡ biểu thị baculovirut tái tổ hợp. ADN bacmit chứa hệ gen baculovirut tái tổ hợp được phân lập, bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường, và được sử dụng để lây nhiễm các tế bào Spodoptera frugiperda, như các tế bào Sf9. Virut tái tổ hợp biểu hiện protein quan tâm sau đó được tạo ra. Cất giữ các virut tái tổ hợp được tạo ra bằng các phương pháp thường sử dụng trong nghiên cứu.

Để tạo ra protein, virut tái tổ hợp được sử dụng để lây nhiễm các tế bào chủ, cụ thể là dòng tế bào nhận được từ ấu trùng bướm đêm, Spodoptera frugiperda (ví dụ, các tế bào Sf9 hoặc Sf21) hoặc Trichoplusia ni (ví dụ, các tế bào HIGH FIVE; Invitrogen, Carlsbad, CA). Nói chung xem Glick and Pasternak, Molecular Biotechnology, Principles & Applications of Recombinant DNA (ASM Press, Washington, D.C., 1994). Cũng xem Paten US No.

5,300,435. Các môi trường không có huyết thanh được sử dụng để phát triển và duy trì các tế bào này. Các công thức môi trường thích hợp được biết trong nghiên cứu và có thể có được từ các hãng thương mại. Các tế bào được phát triển từ mật độ lây nhiễm khoảng 2-5 $x10^5$ tế bào đến mật độ là 1-2 x 10^6 tế bào, vào thời điểm đó virut tái tổ hợp cất giữ được bổ sung tại số bội lây nhiễm (multiplicity of infection, MOI) là 0,1 đến 10, cụ thể hơn là gần 3. Các quy trình sử dụng nói chung được mô tả trong các sách chỉ dẫn thực hành có sẵn trong phòng thí nghiệm (xem, ví dụ, King and Posxem, ở trên; O'Reilly *et al*, ở trên; Richardson, ở trên).

Các tế bào nấm, bao gồm các tế bào nấm men, có thể cũng được sử dụng theo sáng chế. Các loài nấm men liên quan đến vấn đề này bao gồm, ví dụ, Saccharomyces cerevisiae, Pichia pastoris, và Pichia methanolica. Các phương pháp biến nạp vào các tế bào S. cerevisiae với ADN ngoại sinh và tạo ra polypeptit tái tổ hợp từ đó được bộc lộ bởi, ví dụ, Kawasaki, Paten US No. 4,599,311; Kawasaki et al., Paten US No. 4,931,373; Brake, Paten US No. 4,870,008; Welch et al., Paten US No. 5,037,743; và Murray et al., Paten US No. 4,845,075. Các tế bào biến nạp được chọn bằng kiểu hình được xác định bằng dấu chuẩn có thể chọn lọc, thường là kháng thuốc hoặc khả năng phát triển khi không có mặt chất dinh dưỡng cụ thể (ví dụ, lơxin). Hệ vectơ làm ví dụ để sử dụng ở Saccharomyces cerevisiae là hệ vectơ POT1 được bộc lộ theo Kawasaki *et al.* (Paten US No. 4,931,373), mà cho phép các tế bào biến nạp được chọn bằng cách phát triển trong các môi trường chứa glucoza. Các vùng khởi đầu phiên mã và vùng kết thúc phiên mã thích hợp để sử dụng trong hệ ở nấm men bao gồm các vùng của các gen mã hóa cho enzym phân hủy đường (xem, ví dụ, Kawasaki, Patent US No. 4,599,311; Kingsman et al., Patent US No. 4,615,974; và Bitter, Patent US No. 4,977,092) và các gen alcohol dehydrogenaza. Cũng xem các Patent US No. 4,990,446; 5,063,154; 5,139,936; và 4,661,454. Các hệ biến nạp ở các nấm men khác, bao gồm Hansenula

polymorpha, Schizosaccharomyces pombe, Kluyveromyces lactis, Kluyveromyces fragilis, Ustilago maydis, Pichia pastoris, Pichia methanolica, Pichia guillermondii, và Candida maltosa là được biết trong nghiên cứu. Xem, ví dụ, Gleeson et al., J. Gen. Microbiol. 132:3459-3465, 1986; Cregg, Patent US No. 4,882,279; và Raymond et al., Yeast 14:11-23, 1998. Các tế bào Aspergillus có thể được sử dụng theo các phương pháp của McKnight et al., Paten US No. 4,935,349. Các phương pháp để biến nạp vào Acremonium chrysogenum được bộc lộ theo Sumino et al., Paten US No. 5,162,228. Các phương pháp để biến nạpvào Neurospora là được bộc lộ theo Lambowitz, Paten US No. 4,486,533. Việc tạo ra các protein tái tổ hợp trong Pichia methanolica được bộc lộ trong các paten U.S. No. 5,716,808; 5,736,383; 5,854,039; và 5,888,768.

Các tế bào chủ nhân sơ, bao gồm các chủng vi khuẩn Escherichia coli, Bacillus, và các chi khác cũng là các tế bào chủ hữu ích theo sáng chế. Các kỹ thuật để biến nạp vào các tế bào chủ này và biểu hiện các trình tự ADN lạ được nhân dòng trong đó là được biết rõ trong nghiên cứu (xem, ví dụ, Sambrook and Russell, ở trên). Khi biểu hiện protein tái tổ hợp trong các vi khuẩn như E. coli, protein này có thể bị giữ lại ở tế bào chất, cụ thể là như các hạt không tan, hoặc có thể được hướng đến chu chất bởi trình tự tiết ở vi khuẩn. Ở trường hợp trước, các tế bào này bị dung giải, và các hạt được thu lại và làm biến tính bằng cách sử dụng, ví dụ, guanidin isotioxyanat hoặc urea. Protein biến tính có thể sau đó được cuộn xoắn lại và đime hóa bằng cách pha loãng protein biến tính này, như bằng cách thẩm tách trao đổi dung dịch urea và kết hợp làm giảm và glutation bị oxi hóa, theo sau bằng trao đổi dung dịch muối được đệm hóa. Theo cách khác, protein có thể được thu lại từ tế bào chất ở dạng tan và được phân lập mà không cần sử dụng các chất làm biến tính. Protein được thu lại từ tế bào như dịch chiết dạng nước, ví dụ, trong đệm muối phosphat. Để bắt giữ protein quan tâm, dịch chiết áp dụng trực tiếp vào điều kiện sắc ký, như cột có kháng thể cố định hoặc

cột heparin-Sepharoza. Các protein tiết có thể được thu lại từ chu chất ở dạng tan và dạng có chức năng bằng cách phá vỡ các tế bào này (bằng, ví dụ, siêu âm hoặc thay đổi đột ngột áp suất thấm lọc) để giải phóng các chất ở chu chất và thu lại protein, bằng cách đó ngăn ngừa sự cần thiết làm biến tính và tái cuộn xoắn. Các kháng thể, bao gồm các kháng thể chuỗi đơn, có thể được tạo ra ở các tế bào chủ của vi khuẩn theo các phương pháp được biết. Xem, ví dụ, Bird et al., Science 242:423-426, 1988; Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988; và Pantoliano et al., Biochem. 30:10117-10125, 1991.

Các tế bào chủ được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm được nuôi cấy theo các quy trình thông thường trong môi trường nuôi cấy chứa các chất dinh dưỡng và các thành phần khác đòi hỏi để phát triển các tế bào chủ được chọn. Một loạt các môi trường thích hợp, bao gồm các môi trường xác định và các môi trường phức tạp, là được biết trong nghiên cứu và nói chung bao gồm nguồn cacbon, nguồn nitơ, các axit amin, các vitamin và các chất khoáng cần thiết. Các môi trường có thể cũng chứa các thành phần như như các yếu tố sinh trưởng hoặc huyết thanh, khi đòi hỏi. Môi trường sinh trưởng sẽ tuyển chọn chung các tế bào chứa ADN ngoại sinh được chèn thêm vào bằng cách, ví dụ, chọn lọc thuốc hoặc khiếm khuyết về chất dinh dưỡng cần thiết mà được bổ sung bằng dấu chuẩn có thể chọn lọc được có trên vectơ biểu hiện hoặc được đồng chuyển nhiễm vào tế bào chủ.

Các protein liên kết PSMA được tinh chế bằng cách các phương pháp tinh chế protein thông thường, cụ thể bằng việc kết hợp các kỹ thuật sắc ký. Xem chung Affinity Chromatography: Principles & Methods (Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988); Scopes, Protein Purification: Principles and Practice (Springer-Verlag, New York 1994). Các protein chứa vùng Fc của globulin miễn dịch có thể được tinh chế bằng sắc ký ái lực trên protein A hoặc protein G cố định. Các bước tinh chế bổ sung, như lọc gel, có

thể được sử dụng để đạt được độ tinh chế mong muốn hoặc để cung cấp cho loại muối, trao đổi đệm, và tương tự.

Các phương pháp điều trị

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn được đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức. Nói chung là, các phương pháp như vậy bao gồm cho đối tượng có nhu cầu điều trị dùng lượng hữu hiệu chữa bệnh của protein liên kết PSMA như được mô tả ở đây. Theo một số phương án, protein liên kết PSMA bao gồm ít nhất một chức năng phản ứng lại kiích thích được chọn từ tính gây độc tế bào sinh ra do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), sao cho protein liên kết PSMA tạo ra ADCC và/hoặc CDC kháng các tế bào biểu hiện PSMA ở đối tượng. Theo các phương án khác, trong đó protein liên kết PSMA chứa vùng liên kết thứ hai mà liên kết đặc hiệu với với tế bào T (ví dụ, phức TCR hoặc thành phần của nó, như CD3ε), protein liên kết PSMA tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (RTCC) kháng các tế bào biểu hiện PSMA ở đối tượng.

Theo các biến đổi nhất định của phương pháp, rối loạn là ung thư. Các ung thư làm ví dụ phải điều trị theo sáng chế bao gồm, ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt (ví dụ, cắt kháng ung thư tuyến tiền liệt), ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư dạ dày, carcinoma tế bào sáng thận, ung thư bàng quang, và ung thư phổi. Theo các biến đổi khác, rối loạn là rối loạn tuyến tiền liệt như, ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt hoặc tăng sản lành tính tuyến tiền liệt (SPH). Theo các phương án khác nữa, rối loạn là rối loạn tạo mạch mới như, ví dụ, ung thư đặc trưng bởi sự phát triển khối u rắn. Các ung thư làm ví dụ có các hệ u mạch được đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức và phải điều trị theo sáng chế bao gồm, ví dụ, carcinoma tế bào sáng thận (clear cell renal carcinoma, CCRCC), ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư vú, ung thư bàng quang, ung thư phổi, và ung thư tuyến

tụy (xem, ví dụ, Baccala et al., Urology 70:385-390, 2007 (PSMA biểu hiện ở CCRCC); Liu et al., Cancer Res. 57:3629-3634, 1997 (PSMA biểu hiện ở hàng loạt ung thư không phải ung thư tuyến tiền liệt, bao gồm ung thư thận, ung thư các tế bào lớp trong ở bàng quang, ung thư phổi, ung thư ruột kết, ung thư vú, và ung thư tuyến ở gan); và Milowsky et al., J. Clin. Oncol. 25:540-547, 2007 (biểu hiện ở, ví dụ, ung thư thận, ung thư ruột kết, ung thư bàng quang, và ung thư tuyến tụy, và chứng minh đích đặc hiệu của hệ u mạch ở người bằng cách sử dụng mAb kháng PSMA).

Theo mỗi phương án trong số các phương án về các phương pháp điều trị được mô tả ở đây, protein liên kết PSMA được phân sinh theo cách phù hợp với các phương pháp luận thông thường liên quan đến việc tìm kiếm điều trị để kiểm soát bệnh hoặc rối loạn. Theo sáng chế, lượng hữu hiệu của protein liên kết PSMA được dùng cho đối tượng có nhu cầu điều trị như vậy trong thời gian và các điều kiện đủ để ngăn chặn hoặc điều trị bệnh hoặc điều trị rối loạn.

Các đối tượng dùng các protein liên kết PSMA như được mô tả ở đây bao gồm các bệnh nhân có nguy cơ cao phát triển rối loạn cụ thể được đặc trưng bởi PSMA biểu hiện quá mức cũng như các bệnh nhân thể hiện tồn tại rối loạn như vậy. Cụ thể là, đối tượng bị chẩn đoán như có rối loạn với mục đích tìm kiếm điều trị rối loạn này. Hơn nữa, các đối tượng có thể được giám sát trong quá trình điều trị về thay đổi bất kỳ của rối loạn (ví dụ, tăng hoặc giảm các triệu chứng lâm sàng của rối loạn). Ngoài ra, theo một số biến đổi, đối tượng không bị rối loạn khác mà đòi hỏi điều trị liên quan đến các tế bào đích biểu hiện PSMA.

Theo các ứng dụng phòng bệnh, các dược phẩm hoặc các thuốc dùng cho bệnh nhân dễ bị, hoặc cách khác bị nguy cơ rối loạn cụ thể với lượng đủ để loại trừ hoặc làm giảm nguy cơ hoặc làm chậm sự bắt đầu của rối loạn. Theo các

ứng dụng chữa bệnh, các chế phẩm hoặc các thuốc được dùng cho bệnh nhân bị nghi ngờ, hoặc đã bị rối loạn như vậy với lượng đủ để chữa bệnh, hoặc ít nhất làm ngăn lại một phần, các triệu chứng rối loạn và các biến chứng của nó. Lượng thích hợp để thực hiện điều này được dùng để chỉ như liều lượng hữu hiệu chữa bệnh hoặc hàm lượng. Trong cả hai phác đồ phòng bệnh và chữa bệnh, các chất thường được dùng ở một vài liều đến khi đáp ứng đủ (ví dụ, ức chế hoạt tính tạo mạch không thích hợp) đạt được. Cụ thể là, đáp ứng được giám sát và các liều lặp lại được đưa ra nếu đáp ứng mong muốn xuất hiện hướng đến mất dần.

Để nhận biết các đối tượng bệnh nhân nhằm điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế, các phương pháp sàng lọc được chấp nhận có thể được sử dụng để xác định các yếu tố nguy cơ liên quan đến các rối loạn cụ thể hoặc để xác định tình trạng rối loạn tồn tại được nhận biết ở đối tượng. Các phương pháp như vậy có thể bao gồm, ví dụ, xác định liệu cá thể có họ hàng bị chẩn đoán mắc rối loạn cụ thể. Các phương pháp sàng lọc có thể cũng bao gồm, ví dụ, nghiên cứu tỷ mỉ thông thường để xác định tình trạng gia đình đối với rối loạn cụ thể mà được biết là có các thành phần có thể di truyền. Ví dụ, các ung thư khác nhau cũng được biết là có các thành phần nhất định có thể di truyền. Các thành phần có thể di truyền trong ung thư bao gồm, ví dụ, các đột biến đa gen được biến nạp (ví dụ, Ras, Raf, EGFR, cMet, và các gen khác), có mặt hoặc vắng mặt HLA nhất định và các phân tử thụ thể ức chế tế bào tiêu diệt (killer inhibitory receptor, KIR), hoặc các cơ chế bằng cách đó các tế bào ung thư có thể điều biến sự chặn miễn dịch của các tế bào tương tự các tế bào NK và các tế bào T, trực tiếp hoặc gián tiếp (xem, ví dụ, Ljunggren and Malmberg, Nature Rev. Immunol. 7:329-339, 2007; Boyton and Altmann, Clin. Exp. Immunol. 149: 1-8, 2007). Hướng đến đích này, các đầu dò nucleotit có thể được sử dụng thường quy để nhận biết các cá thể mang các dấu chuẩn di truyền liên quan đến rối loạn quan tâm cụ thể. Ngoài ra, hàng loạt các phương pháp miễn dịch được

biết trong nghiên cứu là hữu ích để nhận biết các dấu chuẩn đối với rối loạn cụ thể. Ví dụ, các phương pháp thử nghiệm miễn dịch ELISA khác nhau là có sẵn và được biết rõ trong nghiên cứu mà sử dụng các đầu dò kháng thể đơn dòng để phát hiện các kháng nguyên liên quan đến các khối u cụ thể. Việc sàng lọc có thể được thực hiện như được biểu thị bằng triệu chứng bệnh học được biết ở bệnh nhân, yếu tố tuổi tác, yếu tố nguy cơ liên quan, v.v. Các phương pháp này cho phép thày thuốc lâm sàng tuyển chọn một cách thường quy các bệnh nhân có nhu cầu điều trị bằng các phương pháp được mô tả ở đây. Theo các phương pháp này, các tế bào bệnh lý đích biểu hiện PSMA có thể được thực hiện như phác đồ điều trị độc lập hoặc như phác đồ điều trị kế tiếp, bổ sung, hoặc điều trị phối hợp với các điều trị khác.

Protein liên kết PSMA được bào chế như dược phẩm để dùng. Dược phẩm chứa protein liên kết PSMA có thể được bào chế theo các phương pháp được biết để điều chế các chế phẩm hữu ích về mặt dược phẩm, nhờ đó phân tử chữa bệnh được kết hợp trong hỗn hợp với chất mang dược dụng. Chế phẩm được gọi là "chất mang dược dụng" nếu nó có thể được dung nạp bởi bệnh nhân nhận khi dùng. Đệm muối phosphat vô trùng là một ví dụ về chất mang dược dụng. Các chất mang thích hợp khác được biết rõ đối với các chuyên gia trong nghiên cứu. (Xem, ví dụ,Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences (Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 19th ed. 1995)). Các chế phẩm có thể chứa thêm một hoặc nhiều tá dược, các chất bảo quản, các chất hòa tan, các chất tạo đệm, albumin để ngăn chặn mất protein trên bề mặt lọ, v.v..

Dược phẩm chứa protein liên kết PSMA được dùng cho đối tượng với lượng hữu hiệu chữa bệnh. Theo các phương pháp của sáng chế, protein liên kết PSMA có thể dùng cho các đối tượng bằng một loạt các phương thức dùng, bao gồm, ví dụ, bằng đường dùng trong cơ, tiêm dưới da, trong tĩnh mạch, trong tâm

nhĩ, trong khớp, ngoài ruột, trong mũi, trong phổi, qua da, trong màng phổi, trong vỏ, và đường uống. Nhằm mục đích ngăn chặn và điều trị, tác nhân đối kháng có thể được dùng cho đối tượng bằng cách phân sinh một liều lớn, qua phân sinh liên tục (ví dụ, phân sinh liên tục theo đường qua da) trong suốt quãn thời gian kéo dài, hoặc theo qui trình dùng lặp lại (ví dụ, dựa trên cơ sở hàng giờ, hàng ngày, hoặc hàng tuần).

"Lượng hữu hiệu chữa bệnh" của chế phẩm là lượng mà tạo ra tác dụng rõ rệt có tính chất thống kê để cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn, như tiến triển bệnh được giảm rõ rệt có tính chất thống kê hoặc chức năng cơ quan được cải thiện rõ rệt có tính chất thống kê. Liều lượng chính xác sẽ được xác định bởi thày thuốc lâm sàng theo các tiêu chuẩn được chấp nhận, tính đến bản chất và sự đa dạng tình trạng bệnh điều trị, các đặc tính ở bệnh nhân, v.v. Xác định liều lượng là trong phạm vi kỹ năng thông thường trong nghiên cứu.

Xác định các liều lượng hữu hiệu trong điều kiện này cụ thể dựa trên các nghiên cứu động vật mô hình theo sau bằng các thử nghiệm lâm sàng ở người và được hướng dẫn bằng cách xác định các liều lượng hữu hiệu và các quy trình dùng mà làm giảm rõ rệt sự xuất hiện hoặc mức nghiêm trọng của rối loạn ở các đối tượng mô hình. Các liều lượng hữu hiệu của chế phẩm theo sáng chế khác nhau phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác, bao gồm cách dùng, vị trí đích, tình trạng sinh lý của bệnh nhân, liệu bệnh nhân là người hoặc động vật, các thuốc khác được dùng, liệu điều trị là phòng bệnh hoặc chữa bệnh, cũng như hoạt tính đặc hiệu của chính chế phẩm và khả năng của nó để sản sinh đáp ứng mong muốn ở cá thể. Thông thường, bệnh nhân là người, nhưng ở một số bệnh, bệnh nhân có thể là động vật có vú không phải người. Cụ thể là, các phác đồ liều lượng được điều chỉnh để cung cấp đáp ứng chữa bệnh tối ưu, nghĩa là, để tối ưu hóa tính an toàn và hiệu quả. Theo đó, lượng hữu hiệu chữa bệnh cũng là một lượng trong đó các tác dụng phụ bất kỳ không mong muốn được vượt qua

bởi các tác dụng có lợi khi dùng protein liên kết PSMA như được mô tả ở đây. Để dùng protein liên kết PSMA, liều lượng cụ thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,1µg đến 100mg/kg hoặc 1µg/kg đến khoảng 50mg/kg, và thông thường hơn là 10µg đến 5mg/kg thể trọng ở đối tượng. Theo các phương án cụ thể hơn, lượng hữu hiệu của chất này là giữa khoảng 1µg/kg và khoảng 20mg/kg, giữa khoảng 10µg/kg và khoảng 10mg/kg, hoặc giữa khoảng 0,1mg/kg và khoảng 5mg/kg. Các liều lượng trong phạm vi này có thể đạt được bằng cách dùng một lần hoặc dùng nhiều lần, bao gồm, ví dụ, dùng nhiều lần trong một ngày hoặc dùng hàng ngày, hàng tuần, hai tuần, hoặc dùng hàng tháng. Ví dụ, theo các biến đổi nhất định, phác đồ bao gồm dùng ban đầu theo sau bằng cách dùng nhiều lần kế tiếp cách khoảng một tuần hoặc hai tuần. Phác đồ khác bao gồm dùng ban đầu theo sau bằng cách dùng nhiều lần kế tiếp cách khoảng một tháng hoặc hai tháng. Cách khác, việc dùng có thể trên cơ sở không đều như được chỉ rõ bằng cách giám sát các triệu chứng lâm sàng của rối loạn.

Liều lượng của dược phẩm có thể khác nhau theo thày thuốc lâm sàng chăm sóc để duy trì nồng độ mong muốn tại vị trí đích. Ví dụ, nếu cách dùng phân sinh trong tĩnh mạch được chọn, nồng độ khu trú của chất này trong dòng máu tại mô đích có thể nằm trong khoảng 1-50 nanomol chế phẩm trong một lit, một vài trường hợp nằm trong khoảng 1,0 nanomol trong một lit và 10, 15, hoặc 25 nanomol trong một lit phụ thuộc vào tình trạng của đối tượng và đáp ứng dự kiến được đánh giá. Nồng độ cao hơn hoặc thấp hơn có thể được chọn dựa trên cách phân sinh, ví dụ, phân sinh xuyên qua biểu bì với phân sinh đến bề mặt màng nhầy. Liều lượng cũng được điều chỉnh dựa trên tốc độ giải phóng của chế phẩm được dùng, ví dụ, xịt mũi đối với bột, chế phẩm giải phóng liên tục theo đường miệng hoặc các hạt được tiêm, các chế phẩm dùng qua da, v.v. Để đạt được mức nồng độ như nhau ở huyết thanh, ví dụ, các hạt giải phóng chậm với tốc độ giải phóng là 5 nanomol (ở tình trạng bệnh chuẩn) được dùng khoảng hai liều theo các hạt có tốc độ giải phóng là 10 nanomol.

Các dược phẩm như được mô tả ở đây có thể cũng được sử dụng trong điều kiện liệu pháp phối hợp. Thuật ngữ "liệu pháp phối hợp" được sử dụng ở đây chỉ rõ đối tượng được dùng ít nhất một liều lượng hữu hiệu chữa bệnh của protein liên kết PSMA và chất chữa bệnh khác.

Ví dụ, trong điều kiện liệu pháp miễn dịch đối với ung thư, protein liên kết PSMA theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với hóa trị liệu hoặc xạ trị. Protein liên kết PSMA như được mô tả ở đây có thể hoạt động hiệp lực với các dạng hóa trị liệu hoặc xạ trị thông thường. Protein liên kết PSMA có thể làm giảm khó khăn do khối u và cho phép tiêu diệt có hiệu quả hơn bằng hóa trị liệu.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể cũng được sử dụng kết hợp với các hợp chất điều hòa miễn dịch bao gồm các xytokin khác nhau và các phân tử đồng kích thích/chất ức chế khác nhau. Các hợp chất này có thể bao gồm, nhưng không chỉ bị giới hạn ở, sử dụng các xytokin kích thích các đáp ứng miễn dịch kháng ung thư (ví dụ, IL-2, IL-12, hoặc IL-21). Ngoài ra, các protein liên kết PSMA có thể kết hợp với các chất phản ứng mà đồng kích thích các phân tử bề mặt tế bào khác nhau được thấy ở các tế bào phản ứng lại kích thích dựa trên miễn dịch, như hoạt hóa CD137 (xem Wilcox et al., J. Clin. Invest. 109:651-9, 2002) hoặc ức chế CTLA4 (xem Chambers et al., Ann. Rev. Immunol. 19:565-94, 2001). Cách khác, các protein liên kết PSMA được sử dụng với các chất phản ứng mà tạo ra sự chết theo chương trình của tế bào khối u bằng cách tương tác với các siêu họ thụ thể TNF (ví dụ, các thụ thể liên quan đến TRAIL, DR4, DR5, Fas, hoặc CD37). (Xem, ví dụ, Takeda et al., J. Exp. Med. 195:161-9, 2002; Srivastava, Neoplasia 3:535-46, 2001). Các chất phản ứng như vậy bao gồm các phối tử của các siêu họ thụ thể TNF, gồm có các chất dung hợp phối tử-Ig, và các kháng thể đặc hiệu đối với các siêu họ thụ thể TNF (ví dụ, phối tử TRAIL, các chất dung hợp phối tử TRAIL-Ig, các kháng thể kháng TRAIL, và tương tự).

Liên quan cụ thể đến điều trị các khối u rắn, các quy trình để đánh giá các điểm cuối và hoạt tính kháng u là được biết rõ trong nghiên cứu. Trong khi mỗi quy trình có thể xác định đánh giá đáp ứng u khác nhau, các tiêu chuẩn RECIST (các tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng ở các khối u rắn, Response evaluation Criteria in solid tumors) hiện nay được cho là các hướng dẫn khuyến cáo để đánh giá đáp ứng u bởi Viện ung thư quốc gia (xem Therasse et al., J. Natl. Cancer Inst. 92:205-216, 2000). Theo các tiêu chuẩn RECIST đáp ứng u nghĩa là làm giảm hoặc giới hạn tất cả các thương tổn hoặc các di căn có thể đo được. Nói chung bệnh được cho là có thể đo được nếu nó bao gồm các thương tổn mà có thể được đo chính xác ít nhất một chiều như > 20mm bằng các kỹ thuật thông dụng hoặc > 10mm bằng quét CT xoắn ốc với các mép được xác định rõ theo đồ thị hình ảnh y học hoặc X-ray, chụp cắt lớp quanh trục bằng máy tính (computerized axial tomography, CT), hình ảnh cộng hưởng từ (magnetic resonance imaging, MRI), hoặc kiểm tra lâm sàng (nếu các thương tổn là ở bề mặt). Bệnh không đo được nghĩa là bệnh có các thương tổn < 20mm theo các kỹ thuật thông dụng hoặc < 10mm theo quét CT xoắn ốc, và các thương tổn thực sự không thể đo được (quá nhỏ để đo chính xác). Bệnh không đo được bao gồm bệnh tràn dịch màng phổi, xưng cổ trướng, và bệnh được chứng minh bằng bằng chứng không trực tiếp.

Các tiêu chuẩn đối với tình trạng ở đối tượng đòi hỏi các quy trình đánh giá đáp ứng u rắn. Các tiêu chuẩn đại diện bao gồm như sau: (1) Đáp ứng đầy đủ (Complete Response, CR), được xác định như tất cả bệnh có thể đo được biến mất hoàn toàn; không có các thương tổn mới; không có các triệu chứng liên quan đến bệnh; không có bằng chứng của bệnh không đo được; (2) Đáp ứng một phần (Partial Response, PR) được xác định như làm giảm 30% tổng đường kính dài nhất ở các thương tổn đích (3) Sự tiến triển bệnh (Progressive Disease, PD) được xác định như tăng 20% tổng đường kính dài nhất của các thương tổn đích hoặc xuất hiện thương tổn mới bất kỳ; (4) Bền vững hoặc không đáp ứng,

được xác định như không đủ điều kiện đối với CR, PR, hoặc tiến triển bệnh. (xem Therasse et al., ở trên.)

Các điểm cuối bổ sung được chấp nhận trong nghiên cứu ung thư bao gồm sống sót toàn bộ (overall survival, OS), sống sót không mắc bệnh (disease-free survival, DFS), tốc độ đáp ứng ở đối tượng (objective response rate, ORR), thời gian tiến triển (time to progression, TTP), và sống sót không bị tiến triển (progression-free survival, PFS) (xem Guidance for Industry: Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics, April 2005, Center for Drug Evaluation and Research, FDA, Rockville, MD.)

Các dược phẩm có thể được cung cấp như kit gồm có bình chứa mà chứa dược phẩm như được mô tả ở đây. Dược phẩm có thể được cung cấp, ví dụ, ở dạng dung dịch có thể tiêm được có liều đơn hoặc đa liều, hoặc như dạng bột vô trùng mà sẽ được hoàn nguyên trước khi tiêm. Cách khác, kit như vậy có thể chứa chất phân tán bột khô, dụng cụ tạo sol khí lỏng , hoặc ống phun để dùng dược phẩm. Kit như vậy có thể bao gồm thêm thông tin văn bản về các chỉ dẫn trên và sử dụng dược phẩm này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Phân lập các vùng biến đổi từ 107-1A4 ở chuột và chuẩn bị các biến thể được mô phỏng theo người

Các vùng biến đổi ở chuột được nhân dòng từ các tế bào lai biểu hiện kháng thể đơn dòng 107-1A4 đặc hiệu đối với PSMA ở người (xem Brown et al, 1998, Prostate Cancer and Prostatic Diseases. 1: 208-215). ARN tổng số được phân lập từ tế bào lai bằng cách sử dụng kit RNeasy® Protect Mini (QIAGEN Inc., 74124) theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Kit khuếch đại

để tạo ra cADN có sẵn 5'RACE với mồi oligo(dT) theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Các miền V_H và V_L của kháng thể được khuếch đại bằng PCR từ cADN bởi quy trình SMART™ RACE bằng cách sử dụng các tập hợp chung của các mồi thoái hóa đặc hiệu thuộc gen đối với các họ gen VK hoặc VH khác nhau ở chuột. Các sản phẩm khuếch đại bằng PCR được khẳng định bằng điện di trên gel, và các băng có kích thước đúng được phân lập và được nhân dòng vào vectơ plasmit pCR®2.1-TOPO® bằng cách sử dụng kit nhân dòng TOPO® TA theo các hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen Corporation). Vectơ tái tổ hợp tạo thành được biến nạp vào E. coli TOP10. Xác định trình tự ADN từ các dòng hé lộ nhiều dòng phân lập chứa miền chuỗi nặng có khung hoạt động VH1 ở chuột với độ tương đồng cao (92,7%) với khung hoạt động dòng mầm L17134 ở chuột (Genbank), và miền của chuỗi kapa có khung hoạt động Vk16 ở chuột có độ tương đồng rất cao (98,6%) với khung hoạt động dòng mầm AJ235936 ở chuột (EMBL). Hai vị trí giới hạn - một vị trí là Hindlll và một vị trí là EcoRI - được loại bỏ bằng các đột biến trung tính từ ADN mã hóa cho vùng biến đổi kapa (nhẹ) gốc ở chuột để đơn giản hóa quá trình nhân dòng vào các vectơ biểu hiện đích ở động vật có vú, và các trình tự tiết/dẫn tự nhiên ở chuột cũng không được sử dụng để có lợi cho trình tự dẫn Vk3 ở người. Trình tự polynucleotit vùng VH đặc hiệu PSMA ở chuột (107-1A4) được thể hiện trong SEQ ID NO:1, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:2. Trình tự polynucleotit của vùng VL đặc hiệu PSMA ở chuột (107-1A4) có vị trí giới hạn được thể hiện trong SEQ ID NO:3. Trình tự polynucleotit của vùng VL đặc hiệu PSMA ở chuột (107-1A4) được cải biến để loại bỏ vị trí giới hạn được thể hiện trong SEQ ID NO:4, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:5.

Các trình tự ADN mã hóa cho các trình tự scFv này ở chuột và được gộp thành các đoạn chức năng để cài vào các giá đỡ thích hợp (ví dụ, SMIP, SCORPION, và các polypeptit dị đime đặc hiệu đơn hoặc đa đặc hiệu) được thiết kế. Sau đó các cấu trúc được tổng hợp bằng Blue Heron (Bothell, WA) và

các kỹ thuật nhân dòng chuẩn dựa trên cắt bằng enzym giới hạn được sử dụng để tạo ra các trình tự gen tương ứng với TSC084 (SEQ ID NO:44; trình tự axit amin SEQ ID NO:46), TSC085 (SEQ ID NO:36; trình tự axit amin SEQ ID NO:38), và TSC092 (SEQ ID NO:37; trình tự axit amin SEQ ID NO:39).

Các trình tự được mô phỏng theo người được thiết kế bằng cách ghép CDR vào các khung hoạt động ở người được tổng hợp tương tự bằng Blue Heron và được nhân dòng vào các vectơ tương tự bằng cách sử dụng cắt giới hạn để tạo ra các trình tự gen sau bằng cách sử dụng hai cách tiếp cận: (A) nối ba đoạn bằng cách sử dụng đoạn HindIII/BamHI, đoạn BamHI/XhoI, và vectơ đích cắt với HindIII/XhoI để tạo ra các trình tự gen tương ứng với TSC188 (SEQ ID NO:40; trình tự axit amin SEQ ID NO:42) và TSC189 (SEQ ID NO:41; trình tự axit amin SEQ ID NO:43); và (B) nối hai đoạn bằng cách sử dụng đoạn HindIII/XhoI và vectơ đích cắt với HindIII/XhoI để tạo ra các trình tự gen tương ứng với TSC192 (SEQ ID NO:53; trình tự axit amin SEQ ID NO:58), TSC193 (SEQ ID NO:54; trình tự axit amin SEQ ID NO:59), TSC194 (SEQ ID NO:48; trình tự axit amin SEQ ID NO:49), TSC195 (SEQ ID NO:55; trình tự axit amin SEQ ID NO:60), TSC196 (SEQ ID NO:56; trình tự axit amin SEQ ID NO:61), TSC199 (SEQ ID NO:50; trình tự axit amin SEQ ID NO:51), TSC210 (SEQ ID NO:69; trình tự axit amin SEQ ID NO:70), TSC211 (SEQ ID NO:71; trình tự axit amin SEQ ID NO:72), TSC212 (SEQ ID NO:73; trình tự axit amin SEQ ID NO:74), TSC213 (SEQ ID NO:75; trình tự axit amin SEQ ID NO:76); TSC249 (SEQ ID NO:77; trình tự axit amin SEQ ID NO:78), TSC250 (SEQ ID NO:79; trình tự axit amin SEQ ID NO:80), TSC251 (SEQ ID NO:81; trình tự axit amin SEQ ID NO:82), và TSC252 (SEQ ID NO:83; trình tự axit amin SEQ ID NO:84); và (C) nối hai đoạn bằng cách sử dụng đoạn BsrGI/EcoRI và một trong số hai vectơ đích cắt với BsrGI/EcoRI để tạo ra các trình tự gen tương ứng với TSC295 (SEQ ID NO:157; trình tự axit amin SEQ ID NO:158), TSC296 (SEQ ID NO:159; trình tự axit amin SEQ ID NO:160),

TSC301 (SEQ ID NO:161; trình tự axit amin SEQ ID NO:162), và TSC302 (SEQ ID NO:163; trình tự axit amin SEQ ID NO:164). Trình tự polynucleotit vùng VL được mô phỏng theo người đặc hiệu cho PSMA (107-1A4) được thể hiện trong SEQ ID NO:22, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:23. Trình tự polynucleotit #1 vùng VH đặc hiệu cho PSMA (107-1A4) được mô phỏng theo người được thể hiện trong SEQ ID NO:24, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:25. Trình tự polynucleotit #2 vùng VH được mô phỏng theo người đặc hiệu cho PSMA (107-1A4) được thể hiện trong SEQ ID NO:26, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:27.

Các trình tự đối với các trình tự khác được nhân dòng và các thành phần cũng được thể hiện trong bảng 3. Các trình tự axit amin được thể hiện đối với các cấu trúc polypeptit (ví dụ, SMIP, SCORPION, các protein dị đime đặc hiệu đơn hoặc đa đặc hiệu) không chứa trình tự dẫn Vk3 ở người.

Bảng 3: Các trình tự polypeptit liên kết và các thành phần

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
Vùng VH của 107-1A4 ở chuột	gagatccagctgcaacagtctggacctgagctggtgaagcctg gggcttcagtgaagatgtcctgcaaggcttctggatacacattc actgactactacatgcactgggtgaagcagaacaatggagaga gccttgagtggattggatattttaatccttataatgattatactagat acaaccagaatttcaatggcaaggccacattgactgtagacaa gtcctccagcacagcctacatgcagctcaacagcctgacatct gaggactctgcattctattactgtgcaagatcggatggttactac gatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctc ctcg	eiqlqqsgpelvkpga svkmsckasgytftdy ymhwvkqnngesle wigyfnpyndytryn qnfngkatltvdkssst aymqlnsltsedsafy ycarsdgyydamdy wgq	SEQ ID NO:1 (SEQ ID NO:2)
Vùng VL của 107-	Gatgtccagataacccagtctccatcttatcttgctgcatctcctg gagaaaccattactattaattgcagggcaagtaagagcattagc		SEQ ID NO:3

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
1A4 ở chuột với các vị trí giới hạn bổ sung	aaatatttagcctggtatcaagagaaacctgggaaagctaataa gcttcttatccattctggatccactttgcaatctggaattccatcaa ggttcagtggcagtggatctggtacagatttcactctcaccatca gtagcctggagcctgaagattttgcaatgtattactgtcaacagc atattgaatacccgtggacgttcggtggtggcaccaaactggaa attaaacgggct		
Vùng biến đổi VL của 107-1A4 ở chuột	gatgtccagataacccagtctccatcttatcttgctgcatctcctg gagaaaccattactattaattgcagggcaagtaagagcattagc aaatatttagcctggtatcaagagaaacctgggaaagctaataa gctacttatccattctggatccactttgcaatctggaataccatca aggttcagtggcagtggatctggtacagatttcactctcaccatc agtagcctggagcctgaagattttgcaatgtattactgtcaacag catattgaatacccgtggacgttcggtggtggcaccaaactgga aattaaacgggcc	dvqitqspsylaaspge titincrasksiskylaw yqekpgkankllihsg stlqsgipsrfsgsgsgt dftltisslepedfamy ycqqhieypwtfgggt kleikra	SEQ ID NO:4 (SEQ ID NO:5)
VH CDR1 của 107-1A4	tctggatacacattcactgactactacatgcac	sgytftdyymh	SEQ ID NO:6 (SEQ ID NO:9)
VH CDR2 của 107-1A4	tattttaatccttataatgattatactaga	Yfnpyndytr	SEQ ID NO:7 (SEQ ID NO:10)
VH CDR3 của 107-1A4	tgtgcaagatcggatggttactacgatgctatggactactgg	carsdgyydamdyw	SEQ ID NO:8 (SEQ ID NO:11)
VL CDR1 của 107-1A4	Aagagcattagcaaatat	Ksisky	SEQ ID NO:12 (SEQ ID NO:15)
VL CDR2 của 107-1A4	Tctggatcc	Sgs	SEQ ID NO:13 (SEQ ID NO:16)
VL CDR3	Caacagcatattgaatacccgtggacg	Qqhieypwt	SEQ ID

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
của 107-1A4			NO:14 (SEQ ID NO:17)
VH-VL scFv của 107-1A4	gagatccagctgcaacagtctggacctgagctggtgaagcctg gggcttcagtgaagatgtcctgcaaggcttctggatacacattc actgactactacatgcactgggtgaagcagaacaatggagaga gccttgagtggattggatattttaatccttataatgattatactagat acaaccagaatttcaatggcaaggccacattgactgtagacaa gtcctccagcacagcctacatgcagctcaacagcctgacatct gaggactctgcattctattactgtgcaagatcggatggttactac gatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctc ctcaggcggcggcggaagcggcggtggcggcagcagcgg cggcggcggcagcgatgtccagataacccagtctccatcttat cttgctgcatctcctggagaaaccattactattaattgcagggca agtaagagcattagcaaatatttagcctggtatcaagagaaacc tgggaaagctaataagctacttatccattctggatccactttgcaa tctggaataccatcaaggttcagtggcagtggatctggtacaga tttcactctcaccatcagtagcctggagcctgaagattttgcaatg tattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggtggt ggcaccaaactggaaattaaacgggcctcg	eiqlqqsgpelvkpga svkmsckasgytftdy ymhwvkqnngesle wigyfnpyndytryn qnfngkatltvdkssst aymqlnsltsedsafy ycarsdgyydamdy wgqgtsvtvssggggs ggggssggggsdvqit qspsylaaspgetitinc rasksiskylawyqek pgkankllihsgstlqs gipsrfsgsgsgtdftlti sslepedfamyycqq hieypwtfgggtkleik ras	SEQ ID NO:18 (SEQ ID NO:19)
VL-VH scFv của 107-1A4	gatgtccagataacccagtctccatcttatcttgctgcatctcctg gagaaaccattactattaattgcagggcaagtaagagcattagc aaatatttagcctggtatcaagagaaacctgggaaagctaataa gctacttatccattctggatccactttgcaatctggaataccatca aggttcagtggcagtggatctggtacagatttcactctcaccatc agtagcctggagcctgaagattttgcaatgtattactgtcaacag catattgaatacccgtggacgttcggtggtggcaccaaactgga aattaaacgggccggcggcggcggaagcggcggtggcggc agcagcggcggcggcggcagcgagatccagctgcaacagtc tggacctgagctggtgaagcctggggcttcagtgaagatgtcc tgcaaggcttctggatacacattcactgactactacatgcactgg gtgaagcagaacaatggagagagccttgagtggattggatattt	dvqitqspsylaaspge titincrasksiskylaw yqekpgkankllihsg stlqsgipsrfsgsgsgt dftltisslepedfamy ycqqhieypwtfgggt kleikraggggsgggg ssggggseiqlqqsgp elvkpgasvkmscka sgytftdyymhwvkq nngeslewigyfnpy ndytrynqnfngkatlt	SEQ ID NO:20 (SEQ ID NO:21)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	taatccttataatgattatactagatacaaccagaatttcaatggc aaggccacattgactgtagacaagtcctccagcacagcctaca tgcagctcaacagcctgacatctgaggactctgcattctattact gtgcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggt caaggaacctcagtcaccgtctcctcg	vdkssstaymqlnslts edsafyycarsdgyyd amdywgqgtsvtvss	
VL của 107-1A4 được mô phỏng theo người	gatatccagatgacccagtctccatccgccatgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgccgggcgagtaagagcatt agcaaatatttagcctggtttcagcagaaaccagggaaagttcc taagctccgcatccattctggatctactttgcaatcaggggtccc atctcggttcagtggcagtggatctgggacagaatttactctcac catcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtca acagcatattgaatacccgtggacgttcggccaagggaccaag gtggaaatcaaacga	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikr	SEQ ID NO:22 (SEQ ID NO:23)
VH#1 của 107-1A4 được mô phỏng theo người	gaggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcct ggggctacagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacatt cactgactactacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaa gggcttgagtggatgggatattttaatccttataatgattatactag atacgcagagaagttccagggcagagtcaccataaccgcgga cacgtctacagacacagcctacatggagctgagcagcctgag atctgaggacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggtt actacgatgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcac cgtctcctcg	evqlvqsgaevkkpg atvkisckasgytftdy ymhwvqqapgkgle wmgyfnpyndytry aekfqgrvtitadtstdt aymelsslrsedtavy ycarsdgyydamdy wgqgttvtvss	SEQ ID NO:24 (SEQ ID NO:25)
VH#2 của 107-1A4 được mô phỏng theo người	caggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcct ggggcttcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacatt cactgactactacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaa gggcttgagtggatgggatattttaatccttataatgattatactag atacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccaggga cacgtctatcagcacagcctacatggagctgagcagcctgaga tctgacgacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggtta ctacgatgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcacc gtctcctcg	qvqlvqsgaevkkpg asvkvsckasgytftd yymhwvrqapgqgl ewmgyfnpyndytr yaqkfqgrvtmtrdtsi staymelsslrsddtav yycarsdgyydamdy wgqgttvtvss	SEQ ID NO:26 (SEQ ID NO:27)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
VL-VH#1 scFv của 107-1A4 được mô phỏng theo người	gatatccagatgacccagtctccatccgccatgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgccgggcgagtaagagcatt agcaaatatttagcctggtttcagcagaaaccagggaaagttcc taagctccgcatccattctggatctactttgcaatcaggggtccc atctcggttcagtggcagtggatctgggacagaatttactctcac catcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtca acagcatattgaatacccgtggacgttcggccaagggaccaag gtggaaatcaaacgaggtggcggagggtctgggggtggcgg atccggaggtggtggctctgaggtccagctggtacagtctggg gctgaggtgaagaagcctggggctacagtgaagatctcctgca aggcttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgc aacaggcccctggaaaagggcttgagtggatgggatattttaat ccttataatgattatactagatacgcagagaagttccagggcag agtcaccataaccgcggacacgtctacagacacagcctacatg gagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattact gtgcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggt caaggaaccacagtcaccgtctcctcg	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsevqlvqsga evkkpgatvkisckas gytftdyymhwvqqa pgkglewmgyfnpy ndytryaekfqgrvtit adtstdtaymelsslrse dtavyycarsdgyyda mdywgqgttvtvss	SEQ ID NO:28 (SEQ ID NO:30)
VL-VH#2 scFv của 107-1A4 được mô phỏng theo người	gatatccagatgacccagtctccatccgccatgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgccgggcgagtaagagcatt agcaaatatttagcctggtttcagcagaaaccagggaaagttcc taagctccgcatccattctggatctactttgcaatcaggggtccc atctcggttcagtggcagtggatctgggacagaatttactctcac catcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtca acagcatattgaatacccgtggacgttcggccaagggaccaag gtggaaatcaaacgaggtggcggagggtctgggggtggcgg atccggaggtggtggctctcaggtccagctggtacagtctggg gctgaggtgaagaagcctggggcttcagtgaaggtctcctgca aggcttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgc gacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggatattttaat ccttataatgattatactagatacgcacagaagttccagggcag agtcaccatgaccagggacacgtctatcagcacagcctacatg	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy	SEQ ID NO:29 (SEQ ID NO:31)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gagctgagcagcctgagatctgacgacacggccgtgtattact gtgcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggt caaggaaccacagtcaccgtctcctcg	ydamdywgqgttvtv ss	
VH#1-VL scFv của 107-1A4 được mô phỏng theo người	gaggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcct ggggctacagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacatt cactgactactacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaa gggcttgagtggatgggatattttaatccttataatgattatactag atacgcagagaagttccagggcagagtcaccataaccgcgga cacgtctacagacacagcctacatggagctgagcagcctgag atctgaggacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggtt actacgatgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcac cgtctcctcaggtggcggagggtctgggggtggcggatccgg aggtggtggctctgatatccagatgacccagtctccatccgcca tgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcg agtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaaacc agggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctactttgca atcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctgggaca gaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgca acttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggc caagggaccaaggtggaaatcaaacgagcctcg	evqlvqsgaevkkpg atvkisckasgytftdy ymhwvqqapgkgle wmgyfnpyndytry aekfqgrvtitadtstdt aymelsslrsedtavy ycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt qspsamsasvgdrvti tcrasksiskylawfqq kpgkvpklrihsgstlq sgvpsrfsgsgsgteftl tisslqpedfatyycqq hieypwtfgqgtkvei kras	SEQ ID NO:32 (SEQ ID NO:34)
VH#2-VL scFv của 107-1A4 được mô phỏng theo người	caggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcct ggggcttcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacatt cactgactactacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaa gggcttgagtggatgggatattttaatccttataatgattatactag atacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccaggga cacgtctatcagcacagcctacatggagctgagcagcctgaga tctgacgacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggtta ctacgatgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcacc gtctcctcaggtggcggagggtctgggggtggcggatccgga ggtggtggctctgatatccagatgacccagtctccatccgccat gtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcg	qvqlvqsgaevkkpg asvkvsckasgytftd yymhwvrqapgqgl ewmgyfnpyndytr yaqkfqgrvtmtrdtsi staymelsslrsddtav yycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt qspsamsasvgdrvti tcrasksiskylawfqq	SEQ ID NO:33 (SEQ ID NO:35)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	agtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaaacc agggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctactttgca atcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctgggaca gaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgca acttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggc caagggaccaaggtggaaatcaaacgcgcctcg	kpgkvpklrihsgstlq sgvpsrfsgsgsgteftl tisslqpedfatyycqq hieypwtfgqgtkvei kras	
TSC085 SMIP thể khảm (VL-VH của 107-1A4 ở chuột scFv-Fc ở người)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatgtccagataacccagtctccatcttat cttgctgcatctcctggagaaaccattactattaattgcagggca agtaagagcattagcaaatatttagcctggtatcaagagaaacc tgggaaagctaataagctacttatccattctggatccactttgcaa tctggaataccatcaaggttcagtggcagtggatctggtacaga tttcactctcaccatcagtagcctggagcctgaagattttgcaatg tattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggtggt ggcaccaaactggaaattaaacgggccggcggcggcggaag cggcggtggcggcagcagcggcggcggcggcagcgagat ccagctgcaacagtctggacctgagctggtgaagcctggggct tcagtgaagatgtcctgcaaggcttctggatacacattcactgac tactacatgcactgggtgaagcagaacaatggagagagccttg agtggattggatattttaatccttataatgattatactagatacaac cagaatttcaatggcaaggccacattgactgtagacaagtcctc cagcacagcctacatgcagctcaacagcctgacatctgaggac tctgcattctattactgtgcaagatcggatggttactacgatgcta tggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcgagt gagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccaccgtgcc cagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctcttcccc ccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgag gtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgag gtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatg ccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtac cgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctga	dvqitqspsylaaspge titincrasksiskylaw yqekpgkankllihsg stlqsgipsrfsgsgsgt dftltisslepedfamy ycqqhieypwtfgggt kleikraggggsgggg ssggggseiqlqqsgp elvkpgasvkmscka sgytftdyymhwvkq nngeslewigyfnpy ndytrynqnfngkatlt vdkssstaymqlnslts edsafyycarsdgyyd amdywgqgtsvtvss sepkssdkthtcppcp apeaagapsvflfppk pkdtlmisrtpevtcvv vdvshedpevkfnwy vdgvevhnaktkpre eqynstyrvvsvltvlh qdwlngkayacavsn kalpapiektiskakgq prepqvytlppsrdelt knqvsltclvkgfyps	SEQ ID NO:36 (SEQ ID NO:38)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	atggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagccctcc cagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagc cccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatg agctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag gcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgg gcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgga ctccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcc ctgtctccgggtaaatga	diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgk	
TSC092 SMIP thể khảm (VH-VL của 107-1A4 ở chuột scFv-Fc ở người)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgagatccagctgcaacagtctggacctg agctggtgaagcctggggcttcagtgaagatgtcctgcaaggc ttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgaagca gaacaatggagagagccttgagtggattggatattttaatcctta taatgattatactagatacaaccagaatttcaatggcaaggccac attgactgtagacaagtcctccagcacagcctacatgcagctca acagcctgacatctgaggactctgcattctattactgtgcaagat cggatggttactacgatgctatggactactggggtcaaggaac ctcagtcaccgtctcctcaggcggcggcggaagcggcggtg gcggcagcagcggcggcggcggcagcgatgtccagataac ccagtctccatcttatcttgctgcatctcctggagaaaccattact attaattgcagggcaagtaagagcattagcaaatatttagcctgg tatcaagagaaacctgggaaagctaataagctacttatccattct ggatccactttgcaatctggaataccatcaaggttcagtggcagt ggatctggtacagatttcactctcaccatcagtagcctggagcct gaagattttgcaatgtattactgtcaacagcatattgaatacccgt ggacgttcggtggtggcaccaaactggaaattaaacgggcctc gagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccaccgt gcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctctt ccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccct	eiqlqqsgpelvkpga svkmsckasgytftdy ymhwvkqnngesle wigyfnpyndytryn qnfngkatltvdkssst aymqlnsltsedsafy ycarsdgyydamdy wgqgtsvtvssggggs ggggssggggsdvqit qspsylaaspgetitinc rasksiskylawyqek pgkankllihsgstlqs gipsrfsgsgsgtdftlti sslepedfamyycqq hieypwtfgggtkleik rassepkssdkthtcpp cpapeaagapsvflfp pkpkdtlmisrtpevtc vvvdvshedpevkfn wyvdgvevhnaktk preeqynstyrvvsvlt	SEQ ID NO:37 (SEQ ID NO:39)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccct gaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcata atgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacg taccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggct gaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagccct cccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggca gccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccggga tgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaa ggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg ggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctg gactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtgga caagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtg atgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctct ccctgtctccgggtaaatga	vlhqdwlngkayaca vsnkalpapiektiska kgqprepqvytlppsr deltknqvsltclvkgf ypsdiavewesngqp ennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqg nvfscsvmhealhnh ytqkslslspgk	
TSC188 SMIP được mô phỏng theo người (107-1A4 VL-VH#1 scFv-Fc)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcta cagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca gagaagttccagggcagagtcaccataaccgcggacacgtct acagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgag gacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacga	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsevqlvqsga evkkpgatvkisckas gytftdyymhwvqqa pgkglewmgyfnpy ndytryaekfqgrvtit adtstdtaymelsslrse dtavyycarsdgyyda mdywgqgttvtvsss epkssdkthtcppcpa peaagapsvflfppkp	SEQ ID NO:40 (SEQ ID NO:42)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	tgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatga	kdtlmisrtpevtcvvv dvshedpevkfnwyv dgvevhnaktkpree qynstyrvvsvltvlhq dwlngkayacavsnk alpapiektiskakgqp repqvytlppsrdeltk nqvsltclvkgfypsdi avewesngqpenny kttppvldsdgsfflys kltvdksrwqqgnvfs csvmhealhnhytqk slslspgk	
TSC189 SMIP được mô phỏng theo người (107-1A4 VL-VH#2 scFv-Fc)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl	SEQ ID NO:41 (SEQ ID NO:43)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatga	rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel tknqvsltclvkgfyps diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgk	
TSC084 phân tử chắn thể khảm (VL-VH 107-1A4 scFv-Fc-CH1 ở chuột)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatgtccagataacccagtctccatcttat cttgctgcatctcctggagaaaccattactattaattgcagggca agtaagagcattagcaaatatttagcctggtatcaagagaaacc tgggaaagctaataagctacttatccattctggatccactttgcaa tctggaataccatcaaggttcagtggcagtggatctggtacaga tttcactctcaccatcagtagcctggagcctgaagattttgcaatg tattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggtggt ggcaccaaactggaaattaaacgggccggcggcggcggaag	dvqitqspsylaaspge titincrasksiskylaw yqekpgkankllihsg stlqsgipsrfsgsgsgt dftltisslepedfamy ycqqhieypwtfgggt kleikraggggsgggg ssggggseiqlqqsgp elvkpgasvkmscka	SEQ ID NO:44 (SEQ ID NO:46)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cggcggtggcggcagcagcggcggcggcggcagcgagat	sgytftdyymhwvkq	
	ccagctgcaacagtctggacctgagctggtgaagcctggggct	nngeslewigyfnpy	
	tcagtgaagatgtcctgcaaggcttctggatacacattcactgac	ndytrynqnfngkatlt	
	tactacatgcactgggtgaagcagaacaatggagagagccttg	vdkssstaymqlnslts	
	agtggattggatattttaatccttataatgattatactagatacaac	edsafyycarsdgyyd	
	cagaatttcaatggcaaggccacattgactgtagacaagtcctc	amdywgqgtsvtvss	
	cagcacagcctacatgcagctcaacagcctgacatctgaggac	sepkssdkthtcppcp	
	tctgcattctattactgtgcaagatcggatggttactacgatgcta	apeaagapsvflfppk	
	tggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcgag	pkdtlmisrtpevtcvv	
	cgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccaccgtgc	vdvshedpevkfnwy	
	ccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctcttccc	vdgvevhnaktkpre	
	cccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctga	eqynstyrvvsvltvlh	
	ggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctga	qdwlngkayacavsn	
	ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataat	kalpapiektiskakgq	
	gccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgta	prepqvytlppsrdelt	
	ccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg	knqvsltclvkgfyps	
	aatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagccctc	diavewesngqpenn	
	ccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcag	ykttppvldsdgsffly	
	ccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggat	skltvdksrwqqgnvf	
	gagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaa	scsvmhealhnhytq	
	ggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg	kslslspgksrastkgp	
	ggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctg	svfplapsskstsggta	
	gactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtgga	algclvkdyfpepvtv	
	caagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtg	swnsgaltsgvhtfpa	
	atgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctct	vlqssglyslssvvtvp	
	ccctgtctccgggtaaatctagagcctccaccaagggcccatc	ssslgtqtyicnvnhkp	
	ggtcttcccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggc	sntkvdkkv	
	acagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgag		
	ccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggc		
	gtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactcc		
	ctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacc		

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacacca aggtggacaagaaagtttga		
phân tử chắn TSC093 (Cris7 scFv-Fc-C_{KYAE})	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtcaggtccagctggtgcagtctgggggc ggagtggtgcagcctgggcggtcactgaggctgtcctgcaag gcttctggctacacctttactagatctacgatgcactgggtaagg caggcccctggaaagggtctggaatggattggatacattaatcc tagcagtgcttatactaattacaatcagaaattcaaggacaggtt cacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagccttcctgca gatggacagcctgaggcccgaggacaccggcgtctatttctgt gcacggccccaagtccactatgattacaacgggtttccttactg gggccaagggactcccgtcactgtctctagcggtggcggagg gtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgcacaaga catccagatgacccagtctccaagcagcctgtctgcaagcgtg ggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagtgta agttacatgaactggtaccagcagaagcccggcaaggccccc aaaagatggatttatgactcatccaaactggcttctggagtccct gctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccgactataccctcac aatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccacttattactgcc agcagtggagtcgtaacccacccacgttcggaggggggacc aagctacaaattacacgctcgagtgagcccaaatcttctgacaa aactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaagccgcggg tgcaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccc tcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgga cgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggga ggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacc gtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgc gcggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaacc atctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtc	qvqlvqsgggvvqpg rslrlsckasgytftrst mhwvrqapgkglew igyinpssaytnynqk fkdrftisadkskstafl qmdslrpedtgvyfca rpqvhydyngfpyw gqgtpvtvssggggsg gggsggggsaqdiqm tqspsslsasvgdrvtm tcsasssvsymnwyq qkpgkapkrwiydss klasgvparfsgsgsgt dytltisslqpedfatyy cqqwsrnpptfgggtk lqitrssepkssdkthtc ppcpapeaagapsvfl fppkpkdtlmisrtpe vtcvvvdvshedpev kfnwyvdgvevhna ktkpreeqynstyrvv svltvlhqdwlngkay acavsnkalpapiekti skakgqprepqvytlp psrdeltknqvsltclv kgfypsdiavewesn gqpennykttppvlds dgsfflyskltvdksrw qqgnvfscsvmheal	SEQ ID NO:45 (SEQ ID NO:47)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	agcctgacctgcctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgc cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactaca agaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg gaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacc actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatctaga actgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaattactt ctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgc cctccaatcgggtaactcccaggagagtgccacagagcagga cagcaaggacagcacctacagcctcagcagcgagctgacgct gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcga agtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc aacaggggagagtga	hnhytqkslslspgksr tvaapsvfifppsdeql ksgtasvvcllnyfypr eakvqwkvdnalqsg nsqesateqdskdstys lsseltlskadyekhkv yacevthqglsspvtks fnrge	
TSC194 Scorpion (huVL- VH#2 107-1A4 scFv-Fc- Cris7 scFv)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp	SEQ ID NO:48 (SEQ ID NO:49)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct	kpkdtlmisrtpevtcv	
	cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc	vvdvshedpevkfnw	
	gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	yvdgvevhnaktkpr	
	ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	eeqynstyrvvsvltvl	
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspgqrhnnssln	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	tgtqmaghspnsqvql	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	vqsgggvvqpgrslrl	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	sckasgytftrstmhw	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	vrqapgkglewigyin	
	cctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttccctgaa	pssaytnynqkfkdrft	
	tacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctcaggtcc	isadkskstaflqmdsl	
	agctggtgcagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggt	rpedtgvyfcarpqvh	
	cactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactagat	ydyngfpywgqgtpv	
	ctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggaaagggtctgg	tvssggggsggggsgg	
	aatggattggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaat	ggsaqdiqmtqspssl	
	cagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatcca	sasvgdrvtmtcsasss	
	agagcacagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgagg	vsymnwyqqkpgka	
	acaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgatt	pkrwiydssklasgvp	
	acaacgggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtc	arfsgsgsgtdytltissl	
	tctagcggtggcggagggtctgggggtggcggatccggagg	qpedfatyycqqwsr	
	tggtggctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagc	npptfgggtklqitr	
	agcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgc		
	agtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcaga		

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	agcccggcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaa actggcttctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctg ggaccgactataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaag atttcgccacttattactgccagcagtggagtcgtaacccaccca cgttcggaggggggaccaagctacaaattacacgataa		
TSC199 Scorpion (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcta cagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca gagaagttccagggcagagtcaccataaccgcggacacgtct acagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgag gacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacga tgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsevqlvqsga evkkpgatvkisckas gytftdyymhwvqqa pgkglewmgyfnpy ndytryaekfqgrvtit adtstdtaymelsslrse dtavyycarsdgyyda mdywgqgttvtvsss epkssdkthtcppcpa peaagapsvflfppkp kdtlmisrtpevtcvvv dvshedpevkfnwyv dgvevhnaktkpree qynstyrvvsvltvlhq dwlngkayacavsnk alpapiektiskakgqp repqvytlppsrdeltk nqvsltclvkgfypsdi avewesngqpenny	SEQ ID NO:50 (SEQ ID NO:51)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttccctgaa tacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctcaggtcc agctggtgcagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggt cactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactagat ctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggaaagggtctgg aatggattggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaat cagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatcca agagcacagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgagg acaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgatt acaacgggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtc tctagcggtggcggagggtctgggggtggcggatccggagg tggtggctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagc agcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgc agtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcaga agcccggcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaa actggcttctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctg ggaccgactataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaag atttcgccacttattactgccagcagtggagtcgtaacccaccca cgttcggaggggggaccaagctacaaattacacgataa	kttppvldsdgsfflys kltvdksrwqqgnvfs csvmhealhnhytqk slslspgqrhnnsslnt gtqmaghspnsqvql vqsgggvvqpgrslrl sckasgytftrstmhw vrqapgkglewigyin pssaytnynqkfkdrft isadkskstaflqmdsl rpedtgvyfcarpqvh ydyngfpywgqgtpv tvssggggsggggsgg ggsaqdiqmtqspssl sasvgdrvtmtcsasss vsymnwyqqkpgka pkrwiydssklasgvp arfsgsgsgtdytltissl qpedfatyycqqwsr npptfgggtklqitr	
phân tử chắn TSC125 (Cris7	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtcaggtccagctggtgcagtctgggggc ggagtggtgcagcctgggcggtcactgaggctgtcctgcaag gcttctggctacacctttactagatctacgatgcactgggtaagg	qvqlvqsgggvvqpg rslrlsckasgytftrst mhwvrqapgkglew igyinpssaytnynqk	SEQ ID NO:52 (SEQ ID NO:57)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
scFv-Fc-CH1)	caggcccctggaaagggtctggaatggattggatacattaatcc	fkdrftisadkskstafl	
	tagcagtgcttatactaattacaatcagaaattcaaggacaggtt	qmdslrpedtgvyfca	
	cacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagccttcctgca	rpqvhydyngfpyw	
	gatggacagcctgaggcccgaggacaccggcgtctatttctgt	gqgtpvtvssggggsg	
	gcacggccccaagtccactatgattacaacgggtttccttactg	gggsggggsaqdiqm	
	gggccaagggactcccgtcactgtctctagcggtggcggagg	tqspsslsasvgdrvtm	
	gtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgcacaaga	tcsasssvsymnwyq	
	catccagatgacccagtctccaagcagcctgtctgcaagcgtg	qkpgkapkrwiydss	
	ggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagtgta	klasgvparfsgsgsgt	
	agttacatgaactggtaccagcagaagcccggcaaggccccc	dytltisslqpedfatyy	
	aaaagatggatttatgactcatccaaactggcttctggagtccct	cqqwsrnpptfgggtk	
	gctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccgactataccctcac	lqitrssepkssdkthtc	
	aatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccacttattactgcc	ppcpapeaagapsvfl	
	agcagtggagtcgtaacccacccacgttcggaggggggacc	fppkpkdtlmisrtpe	
	aagctacaaattacacgctcgagtgagcccaaatcttctgacaa	vtcvvvdvshedpev	
	aactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaagccgcgggg	kfnwyvdgvevhna	
	tgcaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccc	ktkpreeqynstyrvv	
	tcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgga	svltvlhqdwlngkay	
	cgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg	acavsnkalpapiekti	
	gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggga	skakgqprepqvytlp	
	ggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacc	psrdeltknqvsltclv	
	gtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgc	kgfypsdiavewesn	
	gcggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacc	gqpennykttppvlds	
	atctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtac	dgsfflyskltvdksrw	
	accctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtc	qqgnvfscsvmheal	
	agcctgacctgcctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgc	hnhytqkslslspgksr	
	cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactaca	astkgpsvfplapssks	
	agaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctc	tsggtaalgclvkdyfp	
	tacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg	epvtvswnsgaltsgv	
	gaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacc	htfpavlqssglyslssv	
	actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatctaga	vtvpssslgtqtyicnv	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcct ccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg gtcaaggactacttccccgagccggtgacggtgtcgtggaact caggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcct acagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtg ccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtga atcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagtttga	nhkpsntkvdkkv	
phân tử chắn TSC192 (huVL- VH#2 107-1A4 scFv-Fc- $C\kappa_{YAE}$)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsgggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel	SEQ ID NO:53 (SEQ ID NO:58)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatctagaactgtggctgcaccatc tgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaact gcctctgttgtgtgcctgctgaattacttctatcccagagaggcc aaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaact cccaggagagtgccacagagcaggacagcaaggacagcac ctacagcctcagcagcgagctgacgctgagcaaagcagacta cgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcaggg cctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtg a	tknqvsltclvkgfyps diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgksrtvaaps vfifppsdeqlksgtas vvcllnyfypreakvq wkvdnalqsgnsqes ateqdskdstyslsselt lskadyekhkvyace vthqglsspvtksfnrg e	
phân tử chắn TSC193 (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-C_{KYAE})	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctactttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcta cagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsevqlvqsga evkkpgatvkisckas gytftdyymhwvqqa pgkglewmgyfnpy ndytryaekfqgrvtit	SEQ ID NO:54 (SEQ ID NO:59)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	actacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca gagaagttccagggcagagtcaccataaccgcggacacgtct acagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgag gacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacga tgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatctagaactgtggctgcaccatc tgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaact gcctctgttgtgtgcctgctgaattacttctatcccagagaggcc aaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaact cccaggagagtgccacagagcaggacagcaaggacagcac ctacagcctcagcagcgagctgacgctgagcaaagcagacta cgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcaggg cctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtg a	adtstdtaymelsslrse dtavyycarsdgyyda mdywgqgttvtvsss epkssdkthtcppcpa peaagapsvflfppkp kdtlmisrtpevtcvvv dvshedpevkfnwyv dgvevhnaktkpree qynstyrvvsvltvlhq dwlngkayacavsnk alpapiektiskakgqp repqvytlppsrdeltk nqvsltclvkgfypsdi avewesngqpenny kttppvldsdgsfflys kltvdksrwqqgnvfs csvmhealhnhytqk slslspgksrtvaapsvf ifppsdeqlksgtasvv cllnyfypreakvqwk vdnalqsgnsqesate qdskdstyslsseltlsk adyekhkvyacevth qglsspvtksfnrge	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
phân tử chắn TSC195 (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-CH1)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel tknqvsltclvkgfyps diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgksrastkgp svfplapsskstsggta	SEQ ID NO:55 (SEQ ID NO:60)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatctagagcctccaccaagggcc catcggtcttcccctggcaccctcctccaagagcacctctggg ggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttcccc gagccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagc ggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactcta ctccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggc acccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagaaagtttga	algclvkdyfpepvtv swnsgaltsgvhtfpa vlqssglyslssvvtvp ssslgtqtyicnvnhkp sntkvdkkv	
phân tử chắn TSC196 (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-CH1)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcta cagtgaagatctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcaacaggcccctggaaaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca gagaagttccagggcagagtcaccataaccgcggacacgtct acagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgag gacacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacga tgctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsevqlvqsga evkkpgatvkisckas gytftdyymhwvqqa pgkglewmgyfnpy ndytryaekfqgrvtit adtstdtaymelsslrse dtavyycarsdgyyda mdywgqgttvtvsss epkssdkthtcppcpa peaagapsvflfppkp kdtlmisrtpevtcvvv dvshedpevkfnwyv dgvevhnaktkpree	SEQ ID NO:56 (SEQ ID NO:61)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtaaatctagagcctccaccaagggcc catcggtcttcccctggcaccctcctccaagagcacctctggg ggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttcccc gagccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagc ggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactcta ctccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggc acccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagaaagtttga	qynstyrvvsvltvlhq dwlngkayacavsnk alpapiektiskakgqp repqvytlppsrdeltk nqvsltclvkgfypsdi avewesngqpenny kttppvldsdgsfflys kltvdksrwqqgnvfs csvmhealhnhytqk slslspgksrastkgps vfplapsskstsggtaal gclvkdyfpepvtvs wnsgaltsgvhtfpavl qssglyslssvvtvpss slgtqtyicnvnhkpsn tkvdkkv	
TSC210 SMIP được mô phỏng theo người (VH#2-VL scFv-Fc ở người)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtcaggtccagctggtacagtctggggctg aggtgaagaagcctggggcttcagtgaaggtctcctgcaagg cttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgcgac aggcccctggacaagggcttgagtggatgggatattttaatcct tataatgattatactagatacgcacagaagttccagggcagagt caccatgaccagggacacgtctatcagcacagcctacatgga gctgagcagcctgagatctgacgacacggccgtgtattactgt gcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggtca	qvqlvqsgaevkkpg asvkvsckasgytftd yymhwvrqapgqgl ewmgyfnpyndytr yaqkfqgrvtmtrdtsi staymelsslrsddtav yycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt	SEQ ID NO:69 (SEQ ID NO:70)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	aggaaccacagtcaccgtctcctcaggtggcggagggtctgg gggtggcggatccggaggtggtggctctgatatccagatgac ccagtctccatccgccatgtctgcatctgtaggagacagagtca ccatcacttgccgggcgagtaagagcattagcaaatatttagcc tggtttcagcagaaaccagggaaagttcctaagctccgcatcca ttctggatctactttgcaatcaggggtcccatctcggttcagtgg cagtggatctgggacagaatttactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagcatattgaata cccgtggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacg cgcctcgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcc caccgtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtctt cctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgg acccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag gactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaac aaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagcc aaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccc atcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctg cctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgg gagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcc tcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagct caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctc atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcag aagagcctctccctgtctccgggtaaatga	qspsamsasvgdrvti tcrasksiskylawfqq kpgkvpklrihsgstlq sgvpsrfsgsgsgteftl tisslqpedfatyycqq hieypwtfgqgtkvei krassepkssdkthtcp pcpapeaagapsvflf ppkpkdtlmisrtpevt cvvvdvshedpevkf nwyvdgvevhnakt kpreeqynstyrvvsv ltvlhqdwlngkayac avsnkalpapiektisk akgqprepqvytlpps rdeltknqvsltclvkgf ypsdiavewesngqp ennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqg nvfscsvmhealhnh ytqkslslspgk	
TSC211 SMIP được mô phỏng theo người	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgaggtccagctggtacagtctggggctg aggtgaagaagcctggggctacagtgaagatctcctgcaagg cttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgcaac aggcccctggaaaagggcttgagtggatgggatattttaatcct	evqlvqsgaevkkpg atvkisckasgytftdy ymhwvqqapgkgle wmgyfnpyndytry aekfqgrvtitadtstdt	SEQ ID NO:71 (SEQ ID NO:72)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
(VH#1-VL scFv-Fc ở người)	tataatgattatactagatacgcagagaagttccagggcagagt caccataaccgcggacacgtctacagacacagcctacatgga gctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgt gcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggtca aggaaccacagtcaccgtctcctcaggtggcggagggtctgg gggtggcggatccggaggtggtggctctgatatccagatgac ccagtctccatccgccatgtctgcatctgtaggagacagagtca ccatcacttgccgggcgagtaagagcattagcaaatatttagcc tggtttcagcagaaaccagggaaagttcctaagctccgcatcca ttctggatctactttgcaatcaggggtcccatctcggttcagtgg cagtggatctgggacagaatttactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagcatattgaata cccgtggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacg agcctcgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcc caccgtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtctt cctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgg acccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag gactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaac aaagccctcccagccccccatcgagaaaaccatctccaaagcc aaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccc atcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctg cctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgg gagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcc tcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagct caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctc atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcag aagagcctctccctgtctccgggtaaatga	aymelsslrsedtavy ycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt qspsamsasvgdrvti tcrasksiskylawfqq kpgkvpklrihsgstlq sgvpsrfsgsgsgteftl tisslqpedfatyycqq hieypwtfgqgtkvei krassepkssdkthtcp pcpapeaagapsvflf ppkpkdtlmisrtpevt cvvvdvshedpevkf nwyvdgvevhnakt kpreeqynstyrvvsv ltvlhqdwlngkayac avsnkalpapiektisk akgqprepqvytlpps rdeltknqvsltclvkgf ypsdiavewesngqp ennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqg nvfscsvmhealhnh ytqkslslspgk	
TSC212	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc	qvqlvqsgaevkkpg	SEQ ID

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
Scorpion được mô phỏng theo người (huVH#2-VL 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)	ccagataccaccggtcaggtccagctggtacagtctggggctg aggtgaagaagcctggggcttcagtgaaggtctcctgcaagg cttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgcgac aggcccctggacaagggcttgagtggatgggatattttaatcct tataatgattatactagatacgcacagaagttccagggcagagt caccatgaccagggacacgtctatcagcacagcctacatgga gctgagcagcctgagatctgacgacacggccgtgtattactgt gcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggtca aggaaccacagtcaccgtctcctcaggtggcggagggtctgg gggtggcggatccggaggtggtggctctgatatccagatgac ccagtctccatccgccatgtctgcatctgtaggagacagagtca ccatcacttgccgggcgagtaagagcattagcaaatatttagcc tggtttcagcagaaaccagggaaagttcctaagctccgcatcca ttctggatctactttgcaatcaggggtcccatctcggttcagtgg cagtggatctgggacagaatttactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagcatattgaata cccgtggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacg cgcctcgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcc caccgtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtctt cctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgg acccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag gactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaac aaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagcc aaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccc atcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctg cctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgg gagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcc tcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagct	asvkvsckasgytftd yymhwvrqapgqgl ewmgyfnpyndytr yaqkfqgrvtmtrdtsi staymelsslrsddtav yycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt qspsamsasvgdrvti tcrasksiskylawfqq kpgkvpklrihsgstlq sgvpsrfsgsgsgteftl tisslqpedfatyycqq hieypwtfgqgtkvei krassepkssdkthtcp pcpapeaagapsvflf ppkpkdtlmisrtpevt cvvvdvshedpevkf nwyvdgvevhnakt kpreeqynstyrvvsv ltvlhqdwlngkayac avsnkalpapiektisk akgqprepqvytlpps rdeltknqvsltclvkgf ypsdiavewesngqp ennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqg nvfscsvmhealhnh ytqkslslspgqrhnns slntgtqmaghspnsq vqlvqsgggvvqpgr	NO:73 (SEQ ID NO:74)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctc atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcag aagagcctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttc cctgaatacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctc aggtccagctggtgcagtctgggggcggagtggtgcagcctg ggcggtcactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttt actagatctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggaaag ggtctggaatggattggatacattaatcctagcagtgcttatacta attacaatcagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcaga caaatccaagagcacagccttcctgcagatggacagcctgag gcccgaggacaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtc cactatgattacaacgggtttccttactggggccaagggactcc cgtcactgtctctagcggtggcggagggtctgggggtggcgg atccggaggtggtggctctgcacaagacatccagatgaccca gtctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcac catgacctgcagtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggt accagcagaagcccggcaaggcccccaaaagatggatttatg actcatccaaactggcttctggagtccctgctcgcttcagtggca gtgggtctgggaccgactataccctcacaatcagcagcctgca gcccgaagatttcgccacttattactgccagcagtggagtcgta acccacccacgttcggagggggggaccaagctacaaattacac gataa	slrlsckasgytftrstm hwvrqapgkglewig yinpssaytnynqkfk drftisadkskstaflq mdslrpedtgvyfcar pqvhydyngfpywg qgtpvtvssggggsgg ggsggggsaqdiqmt qspsslsasvgdrvtmt csasssvsymnwyqq kpgkapkrwiydsskl asgvparfsgsgsgtd ytltisslqpedfatyyc qqwsrnpptfgggtkl qitr	
TSC213 Scorpion được mô phỏng theo người (huVH#1-VL 107-1A4 scFv-Fc-Cris7	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgaggtccagctggtacagtctggggctg aggtgaagaagcctggggctacagtgaagatctcctgcaagg cttctggatacacattcactgactactacatgcactgggtgcaac aggcccctggaaaagggcttgagtggatgggatattttaatcct tataatgattatactagatacgcagagaagttccagggcagagt caccataaccgcggacacgtctacagacacagcctacatgga gctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgt gcaagatcggatggttactacgatgctatggactactggggtca	Evqlvqsgaevkkpg atvkisckasgytftdy ymhwvqqapgkgle wmgyfnpyndytry aekfqgrvtitadtstdt aymelsslrsedtavy ycarsdgyydamdy wgqgttvtvssggggs ggggsggggsdiqmt	SEQ ID NO:75 (SEQ ID NO:76)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
scFv)	aggaaccacagtcaccgtctcctcaggtggcggagggtctgg	qspsamsasvgdrvti	
	gggtggcggatccggaggtggtggctctgatatccagatgac	tcrasksiskylawfqq	
	ccagtctccatccgccatgtctgcatctgtaggagacagagtca	kpgkvpklrihsgstlq	
	ccatcacttgccgggcgagtaagagcattagcaaatatttagcc	sgvpsrfsgsgsgteftl	
	tggtttcagcagaaaccagggaaagttcctaagctccgcatcca	tisslqpedfatyycqq	
	ttctggatctactttgcaatcaggggtcccatctcggttcagtgg	hieypwtfgqgtkvei	
	cagtggatctgggacagaatttactctcaccatcagcagcctgc	krassepkssdkthtcp	
	agcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagcatattgaata	pcpapeaagapsvflf	
	cccgtggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacg	ppkpkdtlmisrtpevt	
	agcctcgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcc	cvvvdvshedpevkf	
	caccgtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtctt	nwyvdgvevhnakt	
	cctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgg	kpreeqynstyrvvsv	
	acccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa	ltvlhqdwlngkayac	
	gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag	avsnkalpapiektisk	
	gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa	akgqprepqvytlpps	
	cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag	rdeltknqvsltclvkgf	
	gactggctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaac	ypsdiavewesngqp	
	aaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagcc	ennykttppvldsdgs	
	aaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccc	fflyskltvdksrwqqg	
	atcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctg	nvfscsvmhealhnh	
	cctggtcaaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgg	ytqkslslspgqrhnns	
	gagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcc	slntgtqmaghspnsq	
	tcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagct	vqlvqsgggvvqpgr	
	caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctc	slrlsckasgytftrstm	
	atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcag	hwvrqapgkglewig	
	aagagcctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttc	yinpssaytnynqkfk	
	cctgaatacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctc	drftisadkskstaflq	
	aggtccagctggtgcagtctgggggcggagtggtgcagcctg	mdslrpedtgvyfcar	
	ggcggtcactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacaccttt	pqvhydyngfpywg	
	actagatctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggaaag	qgtpvtvssggggsgg	
	ggtctggaatggattggatacattaatcctagcagtgcttatacta	ggsggggsaqdiqmt	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	attacaatcagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcaga caaatccaagagcacagccttcctgcagatggacagcctgag gcccgaggacaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtc cactatgattacaacgggtttccttactggggccaagggactcc cgtcactgtctctagcggtggcggagggtctgggggtggcgg atccggaggtggtggctctgcacaagacatccagatgaccca gtctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcac catgacctgcagtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggt accagcagaagcccggcaaggcccccaaaagatggatttatg actcatccaaactggcttctggagtccctgctcgcttcagtggca gtgggtctgggaccgactataccctcacaatcagcagcctgca gcccgaagatttcgccacttattactgccagcagtggagtcgta acccacccacgttcggagggggggaccaagctacaaattacac gataa	qspsslsasvgdrvtmt csasssvsymnwyqq kpgkapkrwiydsskl asgvparfsgsgsgtd ytltisslqpedfatyyc qqwsrnpptfgggtkl qitr	
TSC249 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat	Diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp	SEQ ID NO:77 (SEQ ID NO:78)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct	kpkdtlmisrtpevtcv	
	cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc	vvdvshedpevkfnw	
	gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	yvdgvevhnaktkpr	
	ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	eeqynstyrvvsvltvl	
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspgqrhnnssln	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	tgtqmaghspnsqvql	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	vesgggvvqpgrslrls	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	ckasgytftrstmhwv	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	rqapgqglewigyinp	
	cctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttccctgaa	ssaytnynqkfkdrfti	
	tacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctcaggtcc	sadkskstaflqmdslr	
	agctggtggagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcgg	pedtgvyfcarpqvhy	
	tcactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactaga	dyngfpywgqgtpvt	
	tctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggacaaggtctgg	vssggggsggggsgg	
	aatggattggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaat	ggsaqdiqmtqspssl	
	cagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatcca	sasvgdrvtmtcsasss	
	agagcacagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgagg	vsymnwyqqkpgka	
	acaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgatt	pkrwiydssklasgvp	
	acaacgggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtc	arfsgsgsgtdytltissl	
	tctagcggtggcggagggtctgggggtggcggatccggagg	qpedfatyycqqwsr	
	tggtggctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagc	npptfgggtklqitsss	
	agcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgc		
	agtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcaga		

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	agccgggcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaa actggcttctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctg ggaccgactataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaag atttcgccacttattactgccagcagtggagtcgtaacccaccca cgttcggaggggggaccaagctacaaattacatcctccagcta a		
TSC250 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối H81)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	Diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsgggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel tknqvsltclvkgfyps	SEQ ID NO:79 (SEQ ID NO:80)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggtgaagttcaaattcccttgaccgaaag ttacagcccgaattctcaggtccagctggtggagtctgggggc ggagtggtgcagcctgggcggtcactgaggctgtcctgcaag gcttctggctacacctttactagatctacgatgcactgggtaagg caggcccctggacaaggtctggaatggattggatacattaatcc tagcagtgcttatactaattacaatcagaaattcaaggacaggtt cacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagccttcctgca gatggacagcctgaggcccgaggacaccggcgtctatttctgt gcacggccccaagtccactatgattacaacgggtttccttactg gggccaagggactcccgtcactgtctctagcggtggcggagg gtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgcacaaga catccagatgacccagtctccaagcagcctgtctgcaagcgtg ggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagtgta agttacatgaactggtaccagcagaagccgggcaaggccccc aaaagatggatttatgactcatccaaactggcttctggagtccct gctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccgactataccctcac aatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccacttattactgcc agcagtggagtcgtaacccacccacgttcggaggggggacc aagctacaaattacatcctccagctaa	diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgevqipltesy spnsqvqlvesgggv vqpgrslrlsckasgyt ftrstmhwvrqapgq glewigyinpssaytn ynqkfkdrftisadksk staflqmdslrpedtgv yfcarpqvhydyngf pywgqgtpvtvssgg ggsggggsggggsaq diqmtqspsslsasvg drvtmtcsasssvsym nwyqqkpgkapkrw iydssklasgvparfsg sgsgtdytltisslqped fatyycqqwsrnpptf gggtklqitsss	
TSC251 Scorpion được mô	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg	Diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri	SEQ ID NO:81 (SEQ ID

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
phỏng	gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa	hsgstlqsgvpsrfsgs	NO:82)
theo người	accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt	gsgteftltisslqpedfa	
(huVL-	gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg	tyycqqhieypwtfgq	
VH#2	acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt	gtkveikrggggsggg	
107-1A4	gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc	gsggggsqvqlvqsg	
scFv-Fc-	ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag	aevkkpgasvkvsck	
DRA222	ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc	asgytftdyymhwvr	
scFv, với	agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt	qapgqglewmgyfn	
cầu nối	cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact	pyndytryaqkfqgrv	
H83)	actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg	tmtrdtsistaymelssl	
	agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca	rsddtavyycarsdgy	
	cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct	ydamdywgqgttvtv	
	atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg	sssepkssdkthtcppc	
	acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat	papeaagapsvflfpp	
	gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct	kpkdtlmisrtpevtcv	
	cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc	vvdvshedpevkfnw	
	gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	yvdgvevhnaktkpr	
	ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	eeqynstyrvvsvltvl	
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspgsslntgtqm	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	aghspnsqvqlvesgg	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	gvvqpgrslrlsckasg	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	ytftrstmhwvrqapg	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	qglewigyinpssayt	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cctctccctgtctccgggttcttccctgaatacaggaactcagat ggcaggtcattctccgaattctcaggtccagctggtggagtctg ggggcggagtggtgcagcctgggcggtcactgaggctgtcct gcaaggcttctggctacacctttactagatctacgatgcactggg taaggcaggcccctggacaaggtctggaatggattggatacat taatcctagcagtgcttatactaattacaatcagaaattcaaggac aggttcacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagccttcc tgcagatggacagcctgaggcccgaggacaccggcgtctattt ctgtgcacggccccaagtccactatgattacaacgggtttcctta ctggggccaagggactcccgtcactgtctctagcggtggcgg agggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgcaca agacatccagatgacccagtctccaagcagcctgtctgcaagc gtgggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagt gtaagttacatgaactggtaccagcagaagccgggcaaggcc cccaaaagatggatttatgactcatccaaactggcttctggagtc cctgctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccgactatacct cacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccacttattact gccagcagtggagtcgtaacccacccacgttcggaggggggg accaagctacaaattacatcctccagctaa	nynqkfkdrftisadks kstaflqmdslrpedtg vyfcarpqvhydyng fpywgqgtpvtvssg gggsggggsggggsa qdiqmtqspsslsasv gdrvtmtcsasssvsy mnwyqqkpgkapkr wiydssklasgvparf sgsgsgtdytltisslqp edfatyycqqwsrnp ptfgggtklqitsss	
TSC252 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact	Diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv	SEQ ID NO:83 (SEQ ID NO:84)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
H91)	actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg	tmtrdtsistaymelssl	
	agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca	rsddtavyycarsdgy	
	cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct	ydamdywgqgttvtv	
	atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg	sssepkssdkthtcppc	
	acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat	papeaagapsvflfpp	
	gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct	kpkdtlmisrtpevtcv	
	cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc	vvdvshedpevkfnw	
	gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	yvdgvevhnaktkpr	
	ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	eeqynstyrvvsvltvl	
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspgnslanqevq	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	ipltesyspnsqvqlve	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	sgggvvqpgrslrlsck	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	asgytftrstmhwvrq	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	apgqglewigyinpss	
	cctctccctgtctccgggtaactcattagcaaaccaagaagttca	aytnynqkfkdrftisa	
	aattcccttgaccgaaagttacagcccgaattctcaggtccagct	dkskstaflqmdslrpe	
	ggtggagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggtcact	dtgvyfcarpqvhydy	
	gaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactagatctac	ngfpywgqgtpvtvs	
	gatgcactgggtaaggcaggcccctggacaaggtctggaatg	sggggsggggsgggg	
	gattggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaatcag	saqdiqmtqspsslsas	
	aaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatccaaga	vgdrvtmtcsasssvs	
	gcacagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgaggaca	ymnwyqqkpgkap	
	ccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgattaca	krwiydssklasgvpa	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	acgggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtctct agcggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtg gtggctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagcag cctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagt gccagctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcagaagc cgggcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaaact ggcttctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctggga ccgactataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttc gccacttattactgccagcagtggagtcgtaacccacccacgtt cggaggggggaccaagctacaaattacatcctccagctaa	rfsgsgsgtdytltisslq pedfatyycqqwsrn pptfgggtklqitsss	
TSC295 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối H9)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl	SEQ ID NO:157 (SEQ ID NO:158)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspggsppspns	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	qvqlvesgggvvqpg	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	rslrlsckasgytftrst	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	mhwvrqapgqglew	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	igyinpssaytnynqk	
	cctctccctgtctccgggtgggagcccaccttcaccgaattctc	fkdrftisadkskstafl	
	aggtccagctggtggagtctgggggcggagtggtgcagcctg	qmdslrpedtgvyfca	
	ggcggtcactgaggctgtcctgcaaggcttctggctacaccttt	rpqvhydyngfpyw	
	actagatctacgatgcactgggtaaggcaggcccctggacaa	gqgtpvtvssggggsg	
	ggtctggaatggattggatacattaatcctagcagtgcttatacta	gggsggggsaqdiqm	
	attacaatcagaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcaga	tqspsslsasvgdrvtm	
	caaatccaagagcacagccttcctgcagatggacagcctgag	tcsasssvsymnwyq	
	gcccgaggacaccggcgtctatttctgtgcacggccccaagtc	qkpgkapkrwiydss	
	cactatgattacaacgggtttccttactggggccaagggactcc	klasgvparfsgsgsgt	
	cgtcactgtctctagcggtggcggagggtctgggggtggcgg	dytltisslqpedfatyy	
	atccggaggtggtggctctgcacaagacatccagatgaccca	cqqwsrnpptfgggtk	
	gtctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcac	lqitsss	
	catgacctgcagtgccagctcaagtgtaagttacatgaactggt		
	accagcagaagccgggcaaggcccccaaaagatggatttatg		
	actcatccaaactggcttctggagtccctgctcgcttcagtggca		
	gtgggtctgggaccgactataccctcacaatcagcagcctgca		
	gcccgaagatttcgccacttattactgccagcagtggagtcgta		
	acccacccacgttcggaggggggaccaagctacaaattacat		

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	cctccagctaa		
TSC296 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối H94)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel tknqvsltclvkgfyps diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgsggggsgg	SEQ ID NO:159 (SEQ ID NO:160)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggttctggtggaggcggttcaggcgga ggtggctccggcggtggcggatcgccgaattctcaggtccag ctggtggagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggtca ctgaggctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactagatct acgatgcactgggtaaggcaggccctggacaaggtctggaa tggattggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaatca gaaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatccaag agcacagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgaggac accggcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgattac aacgggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtctc tagcggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtg gtggctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagcag cctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagt gccagctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcagaagc cgggcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaaact ggcttctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctggga ccgactataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttc gccacttattactgccagcagtggagtcgtaacccacccacgtt cggaggggggaccaagctacaaattacatcctccagctaa	ggsggggspnsqvql vesgggvvqpgrslrls ckasgytftrstmhwv rqapgqglewigyinp ssaytnynqkfkdrfti sadkskstaflqmdslr pedtgvyfcarpqvhy dyngfpywgqgtpvt vssggggsggggsgg ggsaqdiqmtqspssl sasvgdrvtmtcsasss vsymnwyqqkpgka pkrwiydssklasgvp arfsgsgsgtdytltissl qpedfatyycqqwsr npptfgggtklqitsss	
TSC301 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttc	Diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg	SEQ ID NO:161 (SEQ ID NO:162)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối H105)	ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag cctctccctgtctccgggttctggtggaggcggttcaggcgga ggtggctccggcggtggcggatcgcaggtccagctggtgga gtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggtcactgaggct gtcctgcaaggcttctggctacacctttactagatctacgatgca ctgggtaaggcaggcccctggacaaggtctggaatggattgg	aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp kpkdtlmisrtpevtcv vvdvshedpevkfnw yvdgvevhnaktkpr eeqynstyrvvsvltvl hqdwlngkayacavs nkalpapiektiskakg qprepqvytlppsrdel tknqvsltclvkgfyps diavewesngqpenn ykttppvldsdgsffly skltvdksrwqqgnvf scsvmhealhnhytq kslslspgsggggsgg ggsggggsqvqlves gggvvqpgrslrlsck asgytftrstmhwvrq apgqglewigyinpss aytnynqkfkdrftisa dkskstaflqmdslrpe dtgvyfcarpqvhydy ngfpywgqgtpvtvs sggggsggggsgggg	

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	atacattaatcctagcagtgcttatactaattacaatcagaaattca aggacaggttcacaatcagcgcagacaaatccaagagcacag ccttcctgcagatggacagcctgaggcccgaggacaccggcg tctatttctgtgcacggccccaagtccactatgattacaacgggtt tccttactggggccaagggactcccgtcactgtctctagcggtg gcggagggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctct gcacaagacatccagatgacccagtctccaagcagcctgtctg caagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagct caagtgtaagttacatgaactggtaccagcagaagccgggcaa ggcccccaaaagatggatttatgactcatccaaactggcttctg gagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccgactat accctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccactta ttactgccagcagtggagtcgtaacccacccacgttcggaggg gggaccaagctacaaattacatcctccagctaa	saqdiqmtqspsslsas vgdrvtmtcsasssvs ymnwyqqkpgkap krwiydssklasgvpa rfsgsgsgtdytltisslq pedfatyycqqwsrn pptfgggtklqitsss	
TSC302 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv, với cầu nối H106)	atggaagcaccagcgcagcttctcttcctcctgctactctggctc ccagataccaccggtgatatccagatgacccagtctccatccg ccatgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcgagtaagagcattagcaaatatttagcctggtttcagcagaa accagggaaagttcctaagctccgcatccattctggatctacttt gcaatcaggggtcccatctcggttcagtggcagtggatctggg acagaatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttt gcaacttattactgtcaacagcatattgaataccgtggacgttc ggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaggtggcggag ggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctcaggtcc agctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggctt cagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacacattcactgact actacatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatattttaatccttataatgattatactagatacgca cagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtct atcagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgacg acacggccgtgtattactgtgcaagatcggatggttactacgat	diqmtqspsamsasv gdrvtitcrasksiskyl awfqqkpgkvpklri hsgstlqsgvpsrfsgs gsgteftltisslqpedfa tyycqqhieypwtfgq gtkveikrggggsggg gsggggsqvqlvqsg aevkkpgasvkvsck asgytftdyymhwvr qapgqglewmgyfn pyndytryaqkfqgrv tmtrdtsistaymelssl rsddtavyycarsdgy ydamdywgqgttvtv sssepkssdkthtcppc papeaagapsvflfpp	SEQ ID NO:163 (SEQ ID NO:164)

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gctatggactactggggtcaaggaaccacagtcaccgtctcct	kpkdtlmisrtpevtcv	
	cgagtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgcccacc	vvdvshedpevkfnw	
	gtgcccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagtcttcctc	yvdgvevhnaktkpr	
	ttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccc	eeqynstyrvvsvltvl	
	ctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc	hqdwlngkayacavs	
	ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca	nkalpapiektiskakg	
	taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagca	qprepqvytlppsrdel	
	cgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactg	tknqvsltclvkgfyps	
	gctgaatggcaaggcgtacgcgtgcgcggtctccaacaaagc	diavewesngqpenn	
	cctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg	ykttppvldsdgsffly	
	gcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg	skltvdksrwqqgnvf	
	ggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggt	scsvmhealhnhytq	
	caaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgggagag	kslslspgqrhnnssln	
	caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt	tgtqmaghsqvqlves	
	gctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccg	gggvvqpgrslrlsck	
	tggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctc	asgytftrstmhwvrq	
	cgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagag	apgqglewigyinpss	
	cctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattcttccctgaa	aytnynqkfkdrftisa	
	tacaggaactcagatggcaggtcattctcaggtccagctggtg	dkskstaflqmdslrpe	
	gagtctgggggcggagtggtgcagcctgggcggtcactgag	dtgvyfcarpqvhydy	
	gctgtcctgcaaggcttctggctacacctttactagatctacgat	ngfpywgqgtpvtvs	
	gcactgggtaaggcaggcccctggacaaggtctggaatggat	sggggsggggsgggg	
	tggatacattaatcctagcagtgcttatactaattacaatcagaaa	saqdiqmtqspsslsas	
	ttcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatccaagagca	vgdrvtmtcsasssvs	
	cagccttcctgcagatggacagcctgaggcccgaggacaccg	ymnwyqqkpgkap	
	gcgtctatttctgtgcacggccccaagtccactatgattacaacg	krwiydssklasgvpa	
	ggtttccttactggggccaagggactcccgtcactgtctctagc	rfsgsgsgtdytltisslq	
	ggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtggtgg	pedfatyycqqwsrn	
	ctctgcacaagacatccagatgacccagtctccaagcagcctg	pptfgggtklqitsss	
	tctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagtgcc		
	agctcaagtgtaagttacatgaactggtaccagcagaagccgg		

Tên	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO: (axit amin)
	gcaaggcccccaaaagatggatttatgactcatccaaactggct tctggagtccctgctcgcttcagtggcagtgggtctgggaccg actataccctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgcc acttattactgccagcagtggagtcgtaacccacccacgttcgg agggggggaccaagctacaaattacatcctccagctaa		

Ví dụ 2: Các phân tử dị đime

Các phân tử chắn đặc hiệu PSMA được tạo ra bằng cách sử dụng giá đỡ phân tử chắn như được bộc lộ chung trong các đơn quốc tế số PCT/US2010/62436 và PCT/US2010/62404. Ngắn gọn là, các polypeptit dị đime đặc hiệu PSMA được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện hai chuỗi polypeptit khác nhau, một chuỗi polypeptit chứa vùng đime hóa dị loại CH1 của globulin miễn dịch và chuỗi polypeptit khác chứa vùng đime hóa dị loại CL của globulin miễn dịch. Vào ngày trước khi chuyển nhiễm, các tế bào HEK293 được tạo huyền phù tại nồng độ tế bào là 0,5 x 10^6 tế bào/ml trong môi trường biểu hiện GIBCO® Freestyle™ 293 (Invitrogen). 250ml tế bào được sử dụng để chuyển nhiễm lớn, và 60ml tế bào được sử dụng để chuyển nhiễm nhỏ. Vào ngày chuyển nhiễm, 320ul chất phản ứng transfectin 293fectin™ (Invitrogen) được trộn với 8ml môi trường. Tại cùng thời điểm, 250ug ADN mỗi chuỗi của polypeptit chuỗi đơn được trộn với 8ml môi trường và được ủ trong 5 phút. Sau 15 phút ủ, hỗn hợp ADN-293fectin được bổ sung vào 250ml tế bào 293 và đặt lại vào máy lắc tại 37°C và được lắc với vận tốc là 120 RPM. Để chuyển nhiễm nhỏ hơn sử dụng 60ml tế bào, bốn loại ADN, 293fectin, và môi trường được sử dụng.

Sắc ký ái lực protein A được sử dụng để tinh chế các protein. 2ml protein A agaroza được đóng hộp (Repligen) bổ sung vào cột sắc ký Econo-Column®,

kích thước 2,5 x 10cm (Bio-Rad Laboratories), được rửa nhiều với PBS (10X thể tích cột), và các dịch nổi được nạp vào cột, được rửa lần nữa với PBS, và được rửa giải với 3 thể tích cột bởi đệm rửa giải Pierce IgG. Các protein sau đó được thẩm tách trao đổi nhiều với PBS. Các protein sau đó được cô đặc bằng cách sử dụng các dụng cụ lọc bằng cách ly tâm Amicon® Centricon® (Millipore Corp.) đến thể tích cuối cùng khoảng 0,5ml.

Các protein tinh chế được phân tích trên gel SDS-PAGE 10% bằng cách sử dụng hệ thống điện di XCell SureLock™ Mini-Cell (Invitrogen).

Polypeptit dị đime TSC122 hóa trị đôi được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện các polypeptit chuỗi đơn TSC084 và TSC093. Polypeptit chuỗi đơn TSC084 chứa từ đầu amino- đến đầu cacboxyl của nó: VL-VH scFv của 107-1A4 (kháng-PSMA) ở chuột, khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và CH1 ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC084 được thể hiện trong các SEQ ID NO:44 và 46, tương ứng. Polypeptit chuỗi đơn TSC093 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv Cris7 (kháng-CD3), khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và Cκ(YAE) ở người (nghĩa là, Cκ ở người không có Arg đầu tiên hoặc Cys cuối, nhưng có axit amin thế N30Y, V55A, và T70E). Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC093 được thể hiện trong các SEQ ID NO:45 và 47, tương ứng.

Polypeptit dị đime TSC200 hóa trị đôi được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện chuỗi polypeptit TSC192 và TSC125. TSC192 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: VL-VH#2 scFv 107-1A4 (kháng-PSMA) được mô phỏng theo người, khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và Cκ(YAE) ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC192 được thể hiện trong các SEQ ID NO:53 và 58, tương ứng. TSC125

chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv Cris7 (kháng-CD3), khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và CH1 ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC125 được thể hiện trong các SEQ ID NO:52 và 57, tương ứng.

Polypeptit dị đime TSC202 hóa trị đôi được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện các chuỗi polypeptit TSC193 và TSC125. TSC193 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv VL-VH#1 107-1A4 (kháng-PSMA) được mô phỏng theo người, khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và Cκ(YAE) ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC193 được thể hiện trong các SEQ ID NO:54 và 59, tương ứng. TSC125 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv Cris7 (kháng-CD3), khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và CH3 ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC125 được thể hiện trong các SEQ ID NO:52 và 57, tương ứng.

Polypeptit dị đime TSC204 hóa trị đôi được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện các chuỗi polypeptit TSC195 và TSC093. TSC195 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: VL-VH#2 scFv 107-1A4 (kháng-PSMA) được mô phỏng theo người, khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và CH3 ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC195 được thể hiện trong các SEQ ID NO:55 và 60, tương ứng. TSC093 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv Cris7 (kháng-CD3), khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và Cκ(YAE) ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC093 được thể hiện trong các SEQ ID NO:45 và 47, tương ứng.

Polypeptit dị đime TSC205 hóa trị đôi được tạo ra bằng cách đồng biểu hiện các chuỗi polypeptit TSC196 và TSC093. TSC196 chứa từ đầu amino đến

đầu cacboxyl của nó: VL-VH#1 scFv 107-1A4 (kháng-PSMA) được mô phỏng theo người, khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và CH1 ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC196 được thể hiện trong các SEQ ID NO:56 và 61, tương ứng. TSC093 chứa từ đầu amino đến đầu cacboxyl của nó: scFv Cris7 (kháng-CD3), khớp nối SCC-P của IgG1 ở người, CH2 của IgG1 ở người, CH3 của IgG1 ở người, và Cκ(YAE) ở người. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin đối với TSC093 được thể hiện trong các SEQ ID NO: 45 và 47, tương ứng.

Ví dụ 3: Kiến tạo phân tử SCORPION

Các phân tử SCORPION đặc hiệu PSMA (TSC194 (SEQ ID NO:48 (axit nucleic), SEQ ID NG:49 (axit amin); TSC199 (SEQ ID NO:50 (axit nucleic), SEQ ID NO:51 (axit amin)); TSC 212 (SEQ ID NQ:73 (axit nucleic), SEQ ĨO NO:74 (axit amin)); TSC213 (SEQ ID NO:75 (axit nucleic), SEQ ID NO:76 (axit amin)); TSC249 (SEQ ID NO:77 (axit nucleic), SEQ ID NO:78 (axit amin)); TSC250 (SEQ ID NO:79 (axit nucleic), SEQ ID NO:80 (axit amin)); TSC251 (SEQ ID NO:81 (axit nucleic), SEQ ID NO:82 (axit amin)); và TSC252 (SEQ ID NO:83 (axit nucleic), SEQ ID NO:84 (axit amin))) được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn, bắt đầu với giá đỡ SCORPION duy trì như khuôn và bằng cách sử dụng các phương pháp được bộc lộ chung trong, ví dụ, công bố đơn PCT No. WO 2007/148988, công bố đơn paten U.S. No. 2008/0051844, công bố đơn PCT No. WO 2010/040105, trong công bố đơn PCT No. WO 2010/003108, và Paten US No. 7, 166,707 (cũng xem bảng 3). Việc bổ sung vào vùng liên kết scFv đầu N đạt được qua việc cắt khuôn gốc và scFv chèn thêm với enzym giới hạn HindIII và XhoI hoặc AgeI và Xhol, các đoạn mong muốn được nhận biết và được phân lập bằng cách tinh chế trên gel agaroza, và nối. Việc bổ sung vào vùng liên kết scFv đầu C đạt được qua cắt khuôn gốc và scFv chèn thêm với các enzym giới hạn EcoRI và

NotI, các đoạn mong muốn được nhận biết và được phân lập bằng cách tinh chế trên gel agaroza, và nối.

Ví dụ 4: Liên kết các phân tử thể khảm và được mô phỏng theo người với các dòng tế bào PSMA(+) và PSMA(-)

Các kháng thể đơn dòng được tinh chế từ các môi trường nuôi cấy tế bào lai bằng các quy trình chuẩn. Các phân tử SMIP, các phân tử chắn, và các phân tử SCORPION bộc lộ ở đây được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm tạm thời vào các tế bào HEK293 ở người, và được tinh chế từ các dịch nổi nuôi cấy tế bào bằng sắc ký ái lực protein A. Nếu các khối kết tập được phát hiện sau sắc ký ái lực, sắc ký loại trừ theo kích thước tiếp theo cũng được thực hiện để đảm bảo tính đồng nhất của protein.

Các nghiên cứu liên kết trên các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PSMA+ (C4-2, Wu et al., 1994 Int. J. Cancer 57:406-12) và PSMA- (DU-145, Stone et al., 1978, Intl. J. Cancer 21 :274-81) được thực hiện bằng các quy trình nhuộm chuẩn dựa trên FACS. Thí nghiệm đặc trưng là đánh dấu 300.000 tế bào trong một lỗ với mức là 200nM đến 0,1nM phân tử liên kết trong 100ul đệm FACS (PBS + 2% huyết thanh dê bình thường + 2% huyết thanh bào thai bò + natri azit 0,1%) trên đá, theo sau là rửa và ủ với kháng thể thứ cấp của dê được đánh dấu huỳnh quang kháng IgG ở người (pha loãng 1:400 theo Invitrogen #1 1013 = 5ug/ml). Sau khi rửa kháng thể thứ hai khỏi tế bào, các tế bào được ủ với dung dịch nhuộm 7-Aminoactinomyxin D (7-AAD) (BD Pharmingen™cat# 559925) (6ul 7AAD trong 100ul đệm FACS) trong 20 phút. Tín hiệu từ các phân tử liên kết được phát hiện bằng cách sử dụng máy đếm tế bào FACSCalibur™ (BD Biosciences) và được phân tích bằng phần mềm phân tích đếm tế bào FlowJo. Các tế bào 7-AAD+ bị loại trừ từ phân tích. Phân tích hồi

quy không tuyến tính để xác định EC50 được thực hiện bằng phần mềm vẽ đồ thị GraphPad Prism® và phần mềm thống kê.

Các nghiên cứu liên kết (Fig.1) được sử dụng để so sánh kháng thể gốc 107-1A4 ở chuột (nghĩa là, TSC045) với các phân tử SMIP thể khảm (TSC085, TSC092) và phân tử chắn TSC122 thể khảm đặc hiệu đôi. Cả hai phân tử SMIP thể khảm thể hiện ái lực với các tế bào PSMA+ có thể so sánh được như kháng thể gốc ở chuột, mặc dù một phân tử (TSC085, có hướng VL-VH scFv) thể hiện mức bão hòa thấp hơn trên bề mặt tế bào. Phân tử chắn thể khảm đặc hiệu đôi (TSC122), mà chỉ có vùng liên kết 107-1A4 đơn, thể hiện ái lực liên kết thấp hơn với các tế bào PSMA+. Tất cả thể hiện ít hoặc không liên kết với dòng tế bào PSMA-DU-145. Các nghiên cứu liên kết của các phân tử SMIP TSC188 và TSC189 được mô phỏng theo người (Fig.2A) thể hiện ái lực có thể so sánh với các ái lực được xác định trước (dữ liệu không trình bày) đối với kháng thể đơn dòng gốc, với các mức bão hòa cao tương tự và sự lựa chọn đối với các tế bào C4-2 PSMA+ vượt qua các tế bào PSMA- DU-145. Các nghiên cứu liên kết của phân tử SCORPION TSC194 và TSC199 được mô phỏng theo người thể hiện ái lực có thể so sánh với các phân tử SMIP TSC188 và TSC189 gốc được mô phỏng theo người (Fig.2B), không liên kết với dòng tế bào PSMA- DU-145.

Ví dụ 5: Nội nhập bào ở tế bào biệt hóa được thấy giữa kháng thể 107-1A4, các giá đỡ SMIP và các giá đỡ phân tử chắn

Các protein liên kết trong các nghiên cứu nội nhập bào được đánh dấu trực tiếp với CypHer™5E Mono NHS Ester (GE Healthcare, #PA15401) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. CypHer5E là thuốc nhuộm đỏ hoạt hóa nhạy với độ pH mà phát huỳnh quang tại độ pH thấp, cụ thể là bắt gặp phía trong các hạt cơ quan nội bào và các lysosom; CypHer5E phát huỳnh quang có thể được sử dụng như đại diện cho kết quả nội nhập bào của tế bào. Chất nhuộm được hòa

tan trong DMSO mới bổ sung vào protein được tinh chế trong đệm PBS/natri cacbonat, độ pH 8,3 (9:1), tại tỷ lệ mol của chất nhuộm:protein là 20: 1. Sau ít nhất 1 giờ ủ trong tối tại nhiệt độ phòng, protein đánh dấu được phân tách từ chất nhuộm không phản ứng bằng cách thẩm tách tại 4°C. Độ hấp phụ tại 280nm và 500nm được sử dụng để tính toán nồng độ protein và chất nhuộm đối với nguyên liệu được đánh dấu. Tỷ lệ chất nhuộm: protein tạo thành nằm trong khoảng từ 6 đến 14, và giá trị này được sử dụng để bình thường hóa dữ liệu hình ảnh. Để đảm bảo sự có mặt của các khối kết tập protein không nghiêng về dữ liệu nội nhập bào, khi các phân tử riêng biệt có các mức khối kết tập có thể phát hiện được (>5%), sắc ký loại trừ theo kích thước tiếp theo được sử dụng để tinh chế các phân tử đến các mức đồng nhất rất cao (>95%).

Tế bào được đặt vào đĩa 2 ngày trước khi thí nghiệm là 4000 tế bào trong một lỗ trong các đĩa 96 giếng màu đen có các đáy trong được phủ poly-D-lysin (BD Biocoat, 356640) trong các môi trường nuôi cấy bình thường. Các thay đổi về môi trường trong thí nghiệm được hướng dẫn cẩn thận để duy trì độ bám dính của tế bào vào bề mặt. Nhân được nhuộm với Hoechst 33342 (Invitrogen, H3570) trong các môi trường RPMI không có phenol đỏ và huyết thanh (Invitrogen, 11835) cộng với HEPES 20mM (Invitrogen, 15630) (được gọi là PRF-RPMI) trong một giờ. Các lỗ được rửa với PRF-RPMI cộng với FBS10%, và 100ul PRF-RPMI ấm + FBS 10% được bổ sung. Các đĩa được đặt vào đá trong 5 phút sau đó các protein liên kết đánh dấu tại các độ pha loãng khác nhau được bổ sung vào từ các dung dịch lưu giữ 5x để liên kết trên đá một giờ. Các đĩa được đặt vào tủ ấm $C0_2$ 37°C trong 60 phút để cho phép nội nhập bào tiếp diễn. Trước khi chụp ảnh, các môi trường được thay thế với PRF-RPMI + FBS 1%.

Các lỗ được quét trên hệ chụp ảnh tế bào và vi tế bào tự động IN CELL Analyzer 1000 (GE Healthcare) để định lượng protein nội nhập bào, dữ liệu

được thu thập từ 8 vùng ở mỗi lỗ. Quy trình thu được được cài đặt để thu thập các dữ liệu với các tập hợp được chọn thích hợp đối với Hoechst và CypHer5E, và các hình ảnh vùng sáng. Các dữ liệu được phân tích bằng phần mềm IN CELL Investigator, bằng cách sử dụng quy trình được phát triển để phát hiện các hạt phát huỳnh quang trong vùng tế bào chất xung quanh mỗi nhân và đo diện tích của chúng. Tổng diện tích hạt phát hiện được chuẩn hóa để bù đối với mức tương đối của chất nhuộm thế cho mỗi protein được đánh dấu.

Các thí nghiệm nội nhập bào bằng cách sử dụng kháng thể gốc 107-1A4 ở chuột, hoặc các phân tử SMIP và phân tử chắn thể khảm, thể hiện không có quá trình nội nhập bào ở dòng tế bào PSMA- DU-145 (dữ liệu không trình bày), nhưng một số quá trình nội nhập bào được phát hiện trên các dòng tế bào PSMA+ LNCaP (CRL-1740™, Bảo tàng giống chuẩn Mỹ) hoặc dòng tế bào C4-2 (Fig.3). Quá trình nội nhập bào của kháng thể gốc lớn hơn quá trình này của các phân tử SMIP và phân tử chắn ở tất cả các nồng độ thử nghiệm. Quá trình nội nhập bào rõ ràng của phân tử chắn (hóa trị một) là lớn hơn quá trình này của phân tử SMIP (hóa trị hai), điều này có thể do tiềm năng liên kết hóa học lượng pháp lớn hơn - mỗi phân tử chắn chỉ có thể gắn một phân tử PSMA, trong khi mỗi phân tử SMIP có thể gắn hai phân tử PSMA, dẫn đến tiềm năng là phân tử chắn tích lũy trên bề mặt tế bào nhiều hơn hai lần. Nếu cả hai phân tử chắn và phân tử SMIP có các mức nội nhập bào tương tự, tín hiệu cao hơn rõ ràng luôn được thấy từ phân tử chắn.

Ví dụ 6: Gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại kháng các dòng tế bào PSMA(+)

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (Peripheral blood mononuclear cells, PBMC) được phân lập ở máu người từ hai nguồn cho khác nhau (được đánh dấu như AG hoặc W) bằng cách sử dụng các gradien ficoll chuẩn. Các tế bào phân

lập được rửa trong đệm muối. Các tế bào T được phân lập bổ sung bằng cách sử dụng Kit phân lập tế bào T II Pan của Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, Germany) bằng cách sử dụng quy trình của nhà sản xuất. Các tế bào T được sử dụng với hoặc không cần kích thích, như được lưu ý trong các Fig.(xem các Fig.4-6), và được bổ sung theo tỷ lệ là 10:1 (tế bào T: tế bào đích) nếu không được biểu thị cách khác.

Các tế bào cắt kháng ung thư tuyến tiền liệt C4-2 (castration-resistant prostate cancer, CRPC) được đánh dấu với chất nhuộm tế bào chất CellTracker™ Green (Invitrogen, C7025) theo quy trình của nhà sản xuất để phân biệt chúng với các tế bào T. Các tế bào C4-2 đánh dấu được đặt vào các đĩa 96 giếng được phủ poly-D-lysin, như được sử dụng trong ví dụ 3, có 8000 tế bào trong một lỗ trong các môi trường phát triển chuẩn, một ngày trước khi bổ sung các tế bào T và phân tử chắn. Mười ul phân tử chắn đặc hiệu đôi được cô đặc (TSC122, TSC200, TSC202, hoặc TSC204) bổ sung vào 100ul môi trường trong một lỗ, cộng với 50ul tế bào T (80.000 tế bào) trong các môi trường phát triển chuẩn. Các dịch nuôi cấy tế bào được giữ trong tủ ấm CO_2 tại 37°C qua đêm. Sau 24 giờ tiếp xúc với phân tử chắn, các tế bào được nhuộm với chất nhuộm7-AAD và Hoechst để có thể định lượng các tế bào chết. Các môi trường được biến đổi thành 100ul RPMI + FBS 1%+ 7-AAD 10ug/ml + Hoechst pha loãng từ gốc là 1:1000, và được ủ thêm 30 phút.

Chụp ảnh và định lượng được thực hiện bằng cách sử dụng kính hiển vi InCell Analyzer microscope (GE), thu thập dữ liệu từ 10 vùng trong một lỗ. Quy trình thu nhận được cài đặt để thu thập các dữ liệu với các tập hợp sàng lọc thích hợp để: a) phát hiện các nhân bằng nhuộm Hoechst, b) phân biệt dạng tế bào qua phát hiện CellTracker™ Green, c) xác định tình trạng tế bào sống/chết bằng nhuộm 7-AAD, và các hình ảnh vùng sáng. Định lượng được thực hiện bằng phần mềm InCell Workstation, bằng cách sử dụng ứng dụng cây quyết

định. Các tế bào riêng biệt được phát hiện bằng sự có mặt của nhân nhuộm theo Hoechst. Các giá trị tín hiệu ngưỡng trong kênh xanh (CellTracker™ Green) được sử dụng để chia các tế bào thành các quần thể C4-2 (dương tính) và các quần thể tế bào T (âm tính). Các giá trị tín hiệu ngưỡng trong kênh đỏ (7-AAD) được sử dụng để chia các tế bào thành các quần thể chết (dương tính) và các quần thể sống (âm tính).

Các phân tử chắn đặc hiệu đôi có đặc điểm của scFv 107-1A4 ở chuột hoặc scFv 107-1A4 được mô phỏng theo người cũng như scFv kháng-CD3 (Cris7) được thử nghiệm về khả năng liên kết chéo đối với các tế bào T với các tế bào u đích PSMA+ và khả năng có các đáp ứng tế bào T gây độc tế bào tế bào phụ thuộc đích (nên được gọi là "gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại", hoặc RTCC). Hoạt tính tiềm năng gây độc tế bào phụ thuộc đích trong suốt 24 giờ được quan sát thấy với phân tử chắn TSC122 thể khảm (Fig.4) với các tế bào T từ hai nguồn cho khác nhau; khoảng 60% các tế bào đích bị dung giải bằng cách xử lý với lượng không đáng kể như 100pM của phân tử chắn TSC122. Gây độc tế bào không trực tiếp ở các tế bào PSMA+ được quan sát thấy khi không có mặt các tế bào T phản ứng lại kích thích (Fig.4); không gây độc tế bào được quan sát thấy tương tự ở các tế bào PSMA - khi có mặt các tế bào T phản ứng lại kích thích (dữ liệu không trình bày). Hoạt tính gây độc tế bào của các phân tử chắn được mô phỏng theo người (TSC200, TSC202, và TSC204) cũng thử nghiệm cùng với phân tử chắn gốc thể khảm (TSC122) (Fig.5). Hai trong số các phân tử chắn được mô phỏng theo người (TSC200, TSC204) thể hiện hoạt tính RTCC thấp hơn phân tử gốc; phân tử chắn được mô phỏng theo người (TSC202) thể hiện hoạt tính RTCC bằng phân tử chắn gốc thể khảm (TSC122) với hiệu lực, pM thấp tương tự. Các kết quả này chứng minh là các phân tử chắn nhất định được mô phỏng theo người có tính gây độc tế bào do tế bào T tương tự như phân tử chắn gốc thể khảm.

Hoạt tính gây độc tế bào của các phân tử SCORPION được mô phỏng theo người (TSC194, TSC199, TSC212, TSC213), so với hoạt tính này của phân tử chắn TSC122 thể khảm, cũng được đánh giá (Fig.6). Các phân tử SCORPION được mô phỏng theo người có scFvs kháng-PSA theo hướng VL-VH (TSC194, TSC199) có hoạt tính gây độc tế bào có thể so sánh với phân tử chắn thể khảm đặc hiệu đôi (cũng có scFv theo hướng VL-VH, và cũng bao gồm scFv kháng-CD3 (Cris7)). Mặt khác, các phân tử SCORPION được mô phỏng theo người có scFvs kháng PSMA theo hướng VH-VL có toàn bộ tính gây độc tế bào thấp hơn.

Ví dụ 7: Hoạt hóa tế bào T phụ thuộc đích và tăng sinh được tạo ra kháng các dòng tế bào PSMA+ được thực hiện bằng các phân tử đặc hiệu đôi nhận được từ 107-1A4

Để so sánh hiệu quả của các phân tử polypeptit khác đặc hiệu đôi về mặt tạo ra hoạt hóa tế bào T phụ thuộc đích và tăng sinh, bốn phân tử đặc hiệu đôi khác nhau kháng PSMA và kháng-CD3 bao gồm TSC122 (phân tử chắn thể khảm), TSC202 (phân tử chắn được mô phỏng theo người), TSC194 (phân tử SCORPION được mô phỏng theo người), và TSC199 (phân tử SCORPION được mô phỏng theo người) được so sánh.

Các tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2 (PSMA+) có được từ Trung tâm Ung thư MD Anderson (Houston, TX) và được nuôi cấy theo quy trình được cung cấp. Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) được phân lập từ máu người bằng cách sử dụng gradien ficoll chuẩn. Các tế bào phân lập này được rửa trong đệm muối. Các tế bào T được phân lập thêm bằng cách sử dụng Kit Phân lập tế bào T II Pan của Miltenyi Biotec (Bergisch Giadbach, Germany) bằng cách sử dụng quy trình của nhà sản xuất.

Sự tăng sinh được đánh giá bằng các quần thể tế bào T phân lập đánh dấu với cacboxyfiuoresxein diaxetat suxinimidyl este (carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, CFSE). Các tế bào T đánh dấu với CFSE được đặt vào đĩa trong các đĩa 96 lỗ đáy chữ U có 100.000 tế bào/lỗ tương ứng, với 30.000 tế bào u C4-2/lỗ, để đạt được tỷ lệ tế bào T đối với tế bào ung thư là khoảng 3:1. Nồng độ của các phân tử thử nghiệm có phạm vi từ 10nM đến 0,1pM được bổ sung vào các hỗn hợp tế bào trong tổng số 200ul/lỗ trong các môi trường RPMI 1640 được bổ sung với 10% huyết thanh người hoặc huyết thanh bò, natri pyruvat và các axit amin không cần thiết. Các đĩa được ủ tại 37°C, $C0_2$ 5% trong tủ ấm ẩm. Sau 3 ngày, các tế bào được đánh dấu với các kháng thể để phân tích đếm tế bào. Các tế bào được đánh dấu và được rửa trong các đĩa gốc của chúng để làm tối thiểu các tế bào bị mất trong việc chuyển, và tất cả việc đánh dấu được thực hiện trong đệm muối có 0,2% albumin huyết thanh bò. Đầu tiên, các tế bào được ủ trước với 100ug/ml IgG của người tại nhiệt độ phòng trong 15 phút. Tiếp đó, các tế bào được ủ với hỗn hợp (tổng thể tích là 50ul) các kháng thể được đánh dấu chất nhuộm sau: CD5-PE, CD4-APC, xanh CD8-Pacific, CD25-PE-Cy7, cũng như 7-Amino Actinomyxin D (7AAD sau đây) trong 40 phút. Các tế bào được rửa hai lần, được tạo huyền phù trong thể tích là 80 đến 120ul, và được đo ngay lập tức trong máy đếm tế bào BD LSRII để đạt được lượng là 80% ở mỗi lỗ. Các hồ sơ mẫu được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm FlowJo để tính toán phần trăm và số tế bào mà có ít nhất một lần phân chia tế bào, theo hình dạng đặc trưng CFSE của chúng, bằng cách chọn liên tiếp trên các tế bào T CD4+ hoặc CD8+ hoạt hóa, sống (7AAD-, CD5+ CD25+ CD4+ hoặc 7AAD- CD5+ CD25+ CD8+, tương ứng). Các giá trị trung bình và các độ lệch chuẩn được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm Microsoft Excel. Các đồ thị được vẽ bằng cách sử dụng Microsoft Excel hoặc GraphPad Prism.

Phân tích các quần thể CD4+ và CD8+ sống từ các lỗ có các tế bào C4-2 được xử lý với các tế bào T (Fig.7A và Fig.7B) hé lộ sự tăng rõ rệt trong cả tổng

số tế bào và phần trăm tế bào tăng sinh khi có mặt các tế bào C4-2 thể hiện kháng nguyên đích PSMA. Sự tăng sinh cao hơn không đáng kể ở các tế bào T CD4+ so với các tế bào T CD8+, và sự tăng sinh được tạo ra bởi các phân tử chắn TSC122 và TSC202 bão hòa tại mức cao hơn các đáp ứng mà được tạo ra bởi các phân tử SCORPION TSC194 và TSC199. Tất cả các phân tử thể hiện sự tăng sinh tế bào T tạo ra tại các nồng độ thấp (100pM). Khác biệt không rõ rệt về tăng sinh tế bào CD4+ với tăng sinh tế bào CD8+ tạo ra tương đối là rõ ràng giữa các phân tử.

Ví dụ 8: Các nghiên cứu liên kết cạnh tranh của các phân tử kháng PSMA khẳng định 107-1A4 liên kết với epitop duy nhất trên PSMA

Để thể hiện kháng thể đơn dòng 107-1A4 kháng PSMA ở chuột, phân tử SMIP thể khảm 107-1A4 (TSC085) và phân tử SMIP 107-1A4 được mô phỏng theo người (TSC189) liên kết với epitop duy nhất trên PSMA, mà epitop này không được nhận biết bởi các kháng thể thông thường có trong tài liệu (J415, J591), và cho thấy là chuyển đổi kháng thể đơn dòng 107-1A4 ở chuột thành dạng SMIP không dẫn đến thay đổi trong việc liên kết với epitop, các thí nghiệm liên kết cạnh tranh được thực hiện. Các tế bào lai tạo ra các kháng thể J591, Hu591 (dạng J591 được mô phỏng theo người) và J415 có từ ATCC. Các kháng thể đơn dòng được tinh chế từ các môi trường nuôi cấy tế bào của tế bào lai bằng các quy trình chuẩn. Các phân tử SMIP được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm tạm thời vào các tế bào 293 của người, và được tinh chế từ các dịch nổi nuôi cấy tế bào bằng sắc ký ái lực Protein A. Nếu các khối kết tập được phát hiện sau sắc ký ái lực, sắc ký loại trừ theo kích thước tiếp theo cũng được thực hiện để đảm bảo tính đồng nhất của protein.

Các nghiên cứu liên kết cạnh tranh trên dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2 PSMA+ được thực hiện bằng các quy trình nhuộm chuẩn dựa trên

FACS. Để đơn giản hóa việc đánh giá liên kết, các phân tử có các vùng Fc ở người được sử dụng để cạnh tranh kháng các phân tử có các miền Fc ở chuột, và kháng thể kháng Fc người hoặc kháng thể kháng Fc chuột được sử dụng để phát hiện liên kết với dòng tế bào đích.

Trong thí nghiệm cụ thể, phân tử X (phân tử liên kết) được trộn với phân tử Y (phân tử cạnh tranh), được đặt trên đá, và sau đó được sử dụng để đánh dấu 300.000 tế bào trong một lỗ với 4nM của phân tử X và mức phân tử Y là 250nM đến 0,4nM trong 100ul đệm FACS (PBS + 2% huyết thanh dê bình thường + 2% huyết thanh bào thai bò + natri azit 0,1%) trên đá, theo sau bởi rửa và ủ với kháng thể thứ cấp được đánh dấu huỳnh quang đặc hiệu đối với phân tử X, kháng thể của dê kháng IgG ở người (pha loãng là 1:400 theo Invitrogen 11013 = 5ug/ml) hoặc kháng thể của dê kháng IgG ở chuột (pha loãng là 1:400 theo Invitrogen 11017). Sau quá trình rửa kháng thể thứ cấp khỏi tế bào, các tế bào được ủ với 7AAD (6ul BD Pharmingen 7AAD, cat# 559925) trong 100ul đệm FACS) trong 20 phút. Tín hiệu từ các phân tử liên kết được phát hiện bằng cách sử dụng máy đếm tế bào FACSCalibur và được phân tích bằng FlowJo. Các tế bào 7A D+ bị loại trừ từ phân tích. Phân tích hồi quy không tuyến tính để xác định EC50 được thực hiện trong GraphPad Prism.

Các nghiên cứu liên kết cạnh tranh (Fig.8A) được sử dụng để xem nếu kháng thể J591 được mô phỏng theo người, Hu591, cạnh tranh với các kháng thể 107-1A4, J591 hoặc J415 ở chuột để liên kết các tế bào. Không có sự cạnh tranh được quan sát thấy đối với liên kết của 107-1A4, được cho là kháng thể này liên kết với epitop không cạnh tranh; tuy nhiên, cạnh tranh được quan sát thấy đối với liên kết của cả kháng thể J591 và J415. Tiếp theo, các nghiên cứu liên kết bổ sung được thực hiện để xem nếu ba kháng thể ở chuột cạnh tranh với phân tử SMIP 107-1A4 thể khảm TSC085 để liên kết các tế bào (Fig.8B). Sự cạnh tranh mạnh được thấy từ liên kết của kháng thể gốc 107-1A4, khẳng định

là phân tử SMIP liên kết với cùng epitop. Không có cạnh tranh hiệu quả được thấy từ các kháng thể J591 hoặc J415 ở chuột. Cuối cùng, các nghiên cứu liên kết được thực hiện để xem nếu ba kháng thể ở chuột cạnh tranh với phân tử SMIP 107-1A4 TSC189 được mô phỏng theo người để liên kết các tế bào (Fig.8C). Một lần nữa, sự cạnh tranh mạnh tương tự được thấy từ liên kết của kháng thể gốc 107-1A4, nhưng không có cạnh tranh hiệu quả được thấy từ các kháng thể J591 hoặc J415 ở chuột. Điều này khẳng định là 107-1A4 liên kết với epitop duy nhất trên PSMA. Nó cũng thể hiện là thay đổi bất kỳ trong hoạt động của SMIP dựa trên 107-1A4 và các phân tử chắn từ thay đổi của kháng thể gốc 107-1A4 không do thay đổi trong liên kết với các epitop.

Ví dụ 9: Ức chế phát triển khối u *in vivo* bằng cách sử dụng phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA

Để khẳng định ảnh hưởng của phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA theo sáng chế (ví dụ, các phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA và kháng CD3) về ức chế phát triển khối u *in vivo*, phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA được đánh giá như sau.

Điều trị phòng bệnh, hoặc ngăn chặn ghép u của các u dưới da: các dòng tế bào u biểu hiện PSMA được nuôi cấy, (như LNCaP, LNCaP C4-2, LNCaP C4-2B, VCaP, CWR22Rv1, LAPC4, MDA-PCa-2b, LuCaP 23.1, LuCaP 58, LuCaP 70, LuCaP 77) được trộn với tế bào bạch huyết ở người (các tế bào đơn nhân máu ngoại vi hoặc các tế bào T được tinh chế ở người) và được tiêm theo đường tiêm dưới da ovào chuột bị suy giảm miễn dịch (như SCID, NOD/SCID, v.v). Phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA được tiêm trong tĩnh mạch vào ngày tiêm và một vài ngày tiếp sau. Ức chế phụ thuộc liều trong sự phát triển khối u quá mức, như đánh giá bằng thể tích u, biểu thị là phân tử tương ứng có hiệu quả kháng khối u biểu hiện PSMA *in vivo*.

Điều trị chữa bệnh, hoặc thoái trào của các u dưới da được thiết lập trước: các dòng tế bào u biểu hiện PSMA được nuôi cấy (như LNCaP, LNCaP C4-2, LNCaP C4-2B, VCaP, CWR22Rv1, LAPC4, MDA-PCa-2b, LuCaP 23.1AI, LuCaP 58, LuCaP 70, LuCaP 77) được tiêm dưới da vào chuột bị suy giảm miễn dịch (như SCID, NOD/SCID, v.v). Phát triển khối u được giám sát, và nghiên cứu bắt đầu khi các u thể hiện dấu hiệu phát triển được thiết lập (cụ thể, thể tích là ~200mm^3). Tế bào bạch huyết ở người (các tế bào đơn nhân máu ngoại vi hoặc các tế bào T được tinh chế ở người) được tiêm trong tĩnh mạch cùng với phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA vào ngày tiêm. Phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA được tiêm một vài ngày tiếp sau. Ức chế phụ thuộc liều trong sự phát triển khối u, như đánh giá bằng thể tích u, biểu thị là phân tử tương ứng có hiệu quả kháng khối u biểu hiện PSMA *in vivo*.

Điều trị phòng bệnh, hoặc ngăn chặn ghép u của các u trong xương chày: Các dòng tế bào u biểu hiện PSMA được nuôi cấy (như LNCaP C4-2, LNCaP C4-2B, VCaP, CWR22Rv1, LAPC4, MDA-PCa-2b, LuCaP 23.1, LuCaP 58, LuCaP 70, LuCaP 77) được trộn với tế bào bạch huyết ở người (các tế bào đơn nhân máu ngoại vi hoặc các tế bào T được tinh chế ở người) và được tiêm trong xương chày ở chuột bị suy giảm miễn dịch (như SCID, NOD/SCID, v.v). Phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA được tiêm trong tĩnh mạch vào ngày tiêm và một vài ngày tiếp sau. Ức chế phụ thuộc liều trong phát triển khối u, như đánh giá bằng các dấu chuẩn sinh học ở huyết thanh, chụp X quang, chụp ảnh phát huỳnh quang, giảm thể trọng, và các đánh giá đại diện khác về thể tích u, biểu thị là phân tử tương ứng có hiệu quả kháng khối u biểu hiện PSMA *in vivo*.

Điều trị chữa bệnh, hoặc thoái trào của các u được thiết lập trước trong xương chày: Các dòng tế bào u biểu hiện PSMA được nuôi cấy (như LNCaP C4-2, LNCaP C4-2B, VCaP, CWR22Rv1, LAPC4, MDA-PCa-2b, LuCaP 23.1AI, LuCaP 58, LuCaP 70, LuCaP 77) được tiêm trong xương chày ở chuột

suy bị giảm miễn dịch (như SCID, NOD/SCID, v.v). Phát triển khối u được giám sát, và nghiên cứu bắt đầu khi khối u thể hiện các dấu hiệu phát triển được thiết lập (cụ thể thể tích là ~200mm^3). Tế bào bạch huyết ở người (các tế bào đơn nhân máu ngoại vi hoặc các tế bào T được tinh chế ở người) được tiêm trong tĩnh mạch cùng với phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA vào ngày tiêm. Phân tử đặc hiệu đôi kháng PSMA được tiêm một vài ngày tiếp sau. Ức chế phụ thuộc liều trong phát triển khối u, như đánh giá bằng các dấu chuẩn sinh học ở huyết thanh, chụp X quang, chụp ảnh phát huỳnh quang, giảm thể trọng, và các việc đánh giá đại diện khác về thể tích u, biểu thị là phân tử tương ứng có hiệu quả kháng khối u biểu hiện PSMA *in vivo*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit liên kết kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) chứa vùng liên kết PSMA được mô phỏng theo người, vùng khớp nối thứ nhất, vùng cố định của globulin miễn dịch và vùng liên kết thứ hai, trong đó vùng liên kết PSMA bao gồm: (i) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa LCDR1, LCDR2, và LCDR3, và (ii) vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa HCDR1, HCDR2, và HCDR3, trong đó LCDR1, LCDR2 và LCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NOs: 15, 16 và 17, tương ứng, và HCDR1, HCDR2, và HCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NOs: 9, 10 và 11, tương ứng; trong đó vùng liên kết thứ hai liên kết đặc hiệu với phức thụ thể tế bào T (TCR) hoặc thành phần của nó; và trong đó polypeptit liên kết PSMA có khả năng tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (RTCC) kháng tế bào biểu hiện kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA).

2. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó vùng liên kết thứ hai liên kết đặc hiệu với CD3.

3. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó vùng cố định của globulin miễn dịch chứa các vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 hoặc IgD.

4. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó vùng liên kết PSMA chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:70, or SEQ ID NO:72.

5. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó polypeptit liên kết PSMA chứa, theo thứ tự từ đầu amino đến đầu cacboxyl hoặc theo thứ tự từ đầu cacboxyl đến đầu amino, (a) vùng liên kết PSMA, (b) vùng khớp nối thứ nhất, (c) vùng cố định của globulin miễn dịch, (d) vùng khớp nối thứ hai, và (e) vùng liên kết thứ hai.

6. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 5, trong đó vùng khớp nối thứ nhất và/hoặc vùng khớp nối thứ hai nhận được từ (i) vùng thân của lectin typ C II hoặc (ii) vùng khớp nối của globulin miễn dịch.

7. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của vùng liên kết thứ hai được chọn từ nhóm gồm có: (a) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện ở các gốc 139-245 trong SEQ ID NO:47 và bao gồm các vùng quyết định bổ cứu (CDR) chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện ở các gốc 139-245 trong SEQ ID NO:47 và vùng biến đổi ở chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện ở các gốc 1-121 trong SEQ ID NO:47 và bao gồm các CDR chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện ở các gốc 1-121 trong SEQ ID NO:47; (b) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện ở các gốc 634-740 trong SEQ ID NO:78 và bao gồm các CDR chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện ở các gốc 634-740 trong SEQ ID NO:78 vùng biến đổi ở chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện ở các gốc 496-616 trong SEQ ID NO:78 và bao gồm các CDR chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện ở các gốc 496-616 trong SEQ ID NO:78; và (c) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:86 và bao gồm các CDR chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện trong SEQ ID NO:86 và vùng biến đổi ở chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:87 và bao gồm các CDR chứa trình tự axit amin của các CDR tương đương được thể hiện trong SEQ ID NO:87.

8. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó polypeptit liên kết PSMA này chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:158, SEQ ID

NO:160, SEQ ID NO:162, or SEQ ID NO:164.

9. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 1, trong đó vùng liên kết PSMA Fv chuỗi đơn (scFv).

10. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 9, trong đó vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ và vùng biến đổi ở chuỗi nặng của scFv được nối bởi trình tự axit amin chứa (Gly4Ser)n, trong đó n=1-5 (SEQ ID NO:165).

11. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 9, trong đó scFv chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:34, or SEQ ID NO:35.

12. Protein đime liên kết PSMA chứa chuỗi polypeptit thứ nhất và chuỗi polypeptit thứ hai, trong đó mỗi chuỗi trong số các chuỗi polypeptit nói đến là polypeptit liên kết PSMA như được xác định theo điểm 1.

13. Hợp chất chứa protein đime liên kết PSMA như được xác định theo điểm 12 và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng.

14. Axit nucleic được phân lập mã hóa cho polypeptit liên kết PSMA như được xác định theo điểm 1.

15. Tế bào chủ tái tổ hợp chứa axit nucleic như được xác định theo điểm 14.

16. Polypeptit liên kết PSMA chứa vùng liên kết PSMA được mô phỏng theo người, vùng khớp nối thứ nhất, vùng cố định của globulin miễn dịch và vùng liên kết thứ hai, trong đó vùng liên kết PSMA bao gồm: (i) vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa LCDR1, LCDR2, và LCDR3, và (ii) vùng biến đổi ở chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa HCDR1, HCDR2, và HCDR3, trong đó LCDR1, LCDR2 và LCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NOs: 15, 16 và 17, tương

ứng, và HCDR1, HCDR2, và HCDR3 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NOs: 9, 10 và 11, tương ứng; trong đó vùng liên kết thứ hai liên kết đặc hiệu với phức thụ thể tế bào T (TCR) hoặc thành phần của nó; trong đó vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:23 và vùng biến đổi ở chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà ít nhất là 95% giống hệt với trình tự axit amin được thể hiện SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:25, hoặc SEQ ID NO:27; và trong đó polypeptit liên kết PSMA có khả năng tạo ra tính gây độc tế bào do tế bào T định hướng lại (RTCC) kháng tế bào biểu hiện PSMA.

17. Polypeptit liên kết PSMA theo điểm 16, trong đó vùng biến đổi ở chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:23 và vùng biến đổi ở chuỗi nặng chứa trình tự axit amin như được thể hiện trong SEQ ID NO:25 hoặc SEQ ID NO:27.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Emergent Product Development Seattle, LLC
Blankenship, John W.
Sewell, Elaine T.
Tan, Philip

<120> PROTEIN LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN MÀNG ĐẶC HIỆU TUYẾN TIỀN LIỆT VÀ CÁC CHẾ PHẨM LIÊN QUAN

<130> 2479.102PC01/EJH

<140> 1-2013-03660
<141> kèm theo đây

<150> 61/478,449
<151> 2011-04-22

<160> 165

<170> PatenIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 357
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 1
gagatccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gaagcagaac 120

aatggagaga gccttgagtg gattggatat tttaatcctt ataatgatta tactagatac 180

aaccagaatt tcaatggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcattct attactgtgc aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctcg 357

<210> 2
<211> 111
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 2

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

<210> 3
<211> 327
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 3
gatgtccaga taacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga
aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca
agagaaacct 120

gggaaagcta ataagcttct tatccattct ggatccactt tgcaatctgg
aattccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag
cctggagcct 240

gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggtggt 300

ggcaccaaac tggaaattaa acgggct
327

<210> 4

<211> 327
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> Được biến đổi (hoàn chỉnh) vùng VL của 107-1A4 ở chuột sử dụng trong cấu trúc
các trình tự thể khảm

<400> 4
gatgtccaga taacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca agagaaacct 120

gggaaagcta ataagctact tatccattct ggatccactt tgcaatctgg aataccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag cctggagcct 240

gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggtggt 300

ggcaccaaac tggaaattaa acgggcc
327

<210> 5
<211> 109
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105

<210> 6
<211> 33
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 6
tctggataca cattcactga ctactacatg cac
33

<210> 7
<211> 30
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 7
tattttaatc cttataatga ttatactaga
30

<210> 8
<211> 42
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 8
tgtgcaagat cggatggtta ctacgatgct atggactact gg
42

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 9

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 10

Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg
1 5 10

<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

Cys Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 12
<211> 18
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 12
aagagcatta gcaaatat
18

<210> 13
<211> 9
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 13
tctggatcc
9

<210> 14
<211> 27
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 14
caacagcata ttgaataccc gtggacg
27

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
1 5

<210> 16
<211> 3
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 16

Ser Gly Ser
1

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 17

Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 18
<211> 735
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv ở chuột (hướng VH-VL)

<400> 18
gagatccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc
agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gaagcagaac 120

aatggagaga gccttgagtg gattggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 180

aaccagaatt tcaatggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag
cacagcctac 240

atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcattct attactgtgc
aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt
ctcctcaggc 360

ggcggcggaa gcggcggtgg cggcagcagc ggcggcggcg gcagcgatgt
ccagataacc 420

cagtctccat cttatcttgc tgcatctcct ggagaaacca ttactattaa
ttgcagggca 480

agtaagagca ttagcaaata tttagcctgg tatcaagaga aacctgggaa
agctaataag 540

ctacttatcc attctggatc cactttgcaa tctggaatac catcaaggtt
cagtggcagt 600

ggatctggta cagatttcac tctcaccatc agtagcctgg agcctgaaga
ttttgcaatg 660

tattactgtc aacagcatat tgaatacccg tggacgttcg gtggtggcac
caaactggaa 720

attaaacggg cctcg
735

<210> 19
<211> 245
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv ở chuột (hướng VH-VL)

<400> 19

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

```
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser
    130                 135                 140

Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
        195                 200                 205

Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220

Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
225                 230                 235                 240

Ile Lys Arg Ala Ser
                245
```

<210> 20
<211> 732
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv ở chuột (hướng VL-VH)

<400> 20
gatgtccaga taacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga
aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca
agagaaacct 120

gggaaagcta ataagctact tatccattct ggatccactt tgcaatctgg
aataccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag
cctggagcct 240

gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggtggt 300

ggcaccaaac tggaaattaa acgggccggc ggcggcggaa gcggcggtgg
cggcagcagc 360

ggcggcggcg gcagcgagat ccagctgcaa cagtctggac ctgagctggt
gaagcctggg 420

gcttcagtga agatgtcctg caaggcttct ggatacacat tcactgacta
ctacatgcac 480

tgggtgaagc agaacaatgg agagagcctt gagtggattg gatattttaa
tccttataat 540

gattatacta gatacaacca gaatttcaat ggcaaggcca cattgactgt
agacaagtcc 600

tccagcacag cctacatgca gctcaacagc ctgacatctg aggactctgc
attctattac 660

tgtgcaagat cggatggtta ctacgatgct atggactact ggggtcaagg
aacctcagtc 720

accgtctcct cg
732

<210> 21
<211> 244
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv ở chuột (hướng VL-VH)

<400> 21

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Gln
115 120 125

Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
130 135 140

Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
145 150 155 160

Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Phe
165 170 175

Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe Asn Gly Lys
180 185 190

Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
195 200 205

Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Phe Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
210 215 220

Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
225 230 235 240

Thr Val Ser Ser

<210> 22
<211> 324
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VL được mô phỏng theo người <400> 22

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 120

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 180

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga
324

<210> 23
<211> 108
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VL được mô phỏng theo người

<400> 23

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 24
<211> 357
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VH được mô phỏng theo người #1

<400> 24
gaggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac
agtgaagatc 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gcaacaggcc 120

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 180

gcagagaagt tccagggcag agtcaccata accgcggaca cgtctacaga
cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc
aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcg
357

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VH được mô phỏng theo người #1

<400> 25

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

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

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 357
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VH được mô phỏng theo người #2

<400> 26
caggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc
agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtctatcag
cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc
aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcg
357

<210> 27
<211> 119
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> vùng VH được mô phỏng theo người #2

<400> 27

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 726
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv A được mô phỏng theo người (hướng VL-VH#1)

<400> 28
gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 120

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 180

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 360

ggtggctctg aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggctaca 420

gtgaagatct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 480

caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 540

actagatacg cagagaagtt ccagggcaga gtcaccataa ccgcggacac
gtctacagac 600

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta
ttactgtgca 660

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 720

tcctcg
726

<210> 29
<211> 726
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv B được mô phỏng theo người (hướng VL-VH#2)

<400> 29
gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 120

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 180

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 360

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 420

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 480

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 540

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 600

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 660

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 720

tcctcg
726

<210> 30
<211> 242
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv A được mô phỏng theo người (hướng VL-VH#1)

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser

130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
195 200 205

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
210 215 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser

<210> 31
<211> 242
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv B được mô phỏng theo người (hướng VL-VH#2)

<400> 31

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
195 200 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
210 215 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser

<210> 32
<211> 732
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv A được mô phỏng theo người (hướng VH#1-VL)

<400> 32
gaggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac
agtgaagatc 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gcaacaggcc 120

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 180

gcagagaagt tccagggcag agtcaccata accgcggaca cgtctacaga
cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc
aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt
ctcctcaggt 360

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca
gatgacccag 420

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg
ccgggcgagt 480

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt
tcctaagctc 540

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag
tggcagtgga 600

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt
tgcaacttat 660

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa
ggtggaaatc 720

aaacgagcct cg
732

<210> 33
<211> 732
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv B được mô phỏng theo người (hướng VH#2-VL)

<400> 33
caggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc
agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtctatcag
cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc
aagatcggat 300

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt
ctcctcaggt 360

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca
gatgacccag 420

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg
ccgggcgagt 480

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt
tcctaagctc 540

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag
tggcagtgga 600

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt
tgcaacttat 660

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa
ggtggaaatc 720

aaacgcgcct cg
732

<210> 34
<211> 244
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv A được mô phỏng theo người (hướng VH#1-VL)

<400> 34

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

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

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

```
Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
                165                 170                 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
    210                 215                 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225                 230                 235                 240

Lys Arg Ala Ser
```

<210> 35

<211> 244
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> scFv B được mô phỏng theo người (hướng VH#2-VL)

<400> 35

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
130 135 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145 150 155 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
165 170 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240

Lys Arg Ala Ser

<210> 36
<211> 1494
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC085 SMIP thể khảm (VL-VH scFv ở chuột - Fc ở người)

<400> 36
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gatgtccaga taacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga
aaccattact 120

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca
agagaaacct 180

gggaaagcta ataagctact tatccattct ggatccactt tgcaatctgg
aataccatca 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag
cctggagcct 300

gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggtggt 360

ggcaccaaac tggaaattaa acgggccggc ggcggcggaa gcggcggtgg
cggcagcagc 420

ggcggcggcg gcagcgagat ccagctgcaa cagtctggac ctgagctggt
gaagcctggg 480

gcttcagtga agatgtcctg caaggcttct ggatacacat tcactgacta
ctacatgcac 540

tgggtgaagc agaacaatgg agagagcctt gagtggattg gatattttaa
tccttataat 600

gattatacta gatacaacca gaatttcaat ggcaaggcca cattgactgt
agacaagtcc 660

tccagcacag cctacatgca gctcaacagc ctgacatctg aggactctgc
attctattac 720

tgtgcaagat cggatggtta ctacgatgct atggactact ggggtcaagg
aacctcagtc 780

accgtctcct cgagtgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc
accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc
caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag
ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc
caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac
cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc
cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca
ggtgtacacc 1200

ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg
cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc
ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta
cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt
gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga
1494

<210> 37
<211> 1497
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC092 SMIP thể khảm (VH-VL scFv ở chuột - Fc ở người)

<400> 37

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gagatccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc
agtgaagatg 120

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt
gaagcagaac 180

aatggagaga gccttgagtg gattggatat tttaatcctt ataatgatta
tactagatac 240

aaccagaatt tcaatggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag
cacagcctac 300

atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcattct attactgtgc
aagatcggat 360

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt
ctcctcaggc 420

ggcggcggaa gcggcggtgg cggcagcagc ggcggcggcg gcagcgatgt
ccagataacc 480

cagtctccat cttatcttgc tgcatctcct ggagaaacca ttactattaa
ttgcagggca 540

agtaagagca ttagcaaata tttagcctgg tatcaagaga aacctgggaa
agctaataag 600

ctacttatcc attctggatc cactttgcaa tctggaatac catcaaggtt
cagtggcagt 660

ggatctggta cagatttcac tctcaccatc agtagcctgg agcctgaaga
ttttgcaatg 720

tattactgtc aacagcatat tgaatacccg tggacgttcg gtggtggcac
caaactggaa 780

attaaacggg cctcgagtga gcccaaatct tctgacaaaa ctcacacatg
cccaccgtgc 840

ccagcacctg aagccgcggg tgcaccgtca gtcttcctct tccccccaaa
acccaaggac 900

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt
gagccacgaa 960

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa
tgccaagaca 1020

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct
caccgtcctg 1080

caccaggact ggctgaatgg caaggcgtac gcgtgcgcgg tctccaacaa agccctccca 1140

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1200

accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1260

aaaggcttct atccaagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1320

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1380

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1440

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 1497

<210> 38
<211> 477
<212> PRT
<213> trình tự nhân tọa <220>
<223> TSC085 SMIP thể khảm (VL-VH scFv ở chuột - Fc ở người)

<400> 38

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

```
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Gln
        115                 120                 125

Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
    130                 135                 140

Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
145                 150                 155                 160

Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Phe
                165                 170                 175

Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe Asn Gly Lys
            180                 185                 190

Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
        195                 200                 205

Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Phe Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
    210                 215                 220

Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
225                 230                 235                 240

Thr Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320
```

```
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470                 475
```

<210> 39
<211> 478
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC092 SMIP thể khảm (VH-VL scFv ở chuột - Fc ở người)

<400> 39

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

```
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser
    130                 135                 140

Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
        195                 200                 205

Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220

Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
225                 230                 235                 240
```

```
Ile Lys Arg Ala Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
                245                 250                 255

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe
            260                 265                 270

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
        275                 280                 285

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
    290                 295                 300

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
305                 310                 315                 320

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
                325                 330                 335

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys
            340                 345                 350

Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
        355                 360                 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
    370                 375                 380

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
385                 390                 395                 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
                405                 410                 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
            420                 425                 430

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
        435                 440                 445
```

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
450 455 460

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 40
<211> 1488
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC188 SMIP được mô phỏng theo người(VL-VH#1 scFv-Fc ở người)

<400> 40
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt 420

ggtggctctg aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc tggggctaca 480

gtgaagatct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg 540

caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat 600

actagatacg cagagaagtt ccagggcaga gtcaccataa ccgcggacac gtctacagac 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga
1488

<210> 41
<211> 1488
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC189 SMIP được mô phỏng theo người (VL-VH#2 scFv-Fc ở người)

<400> 41
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga 1488

<210> 42
<211> 475
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC188 SMIP được mô phỏng theo người (VL-VH#1 scFv-Fc ở người)

<400> 42

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125

```
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
```

340 345 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
355 360 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
370 375 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
405 410 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 43
<211> 475
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC189 SMIP được mô phỏng theo người VL-VH#2 scFv-Fc ở người)

<400> 43

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

```
His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255
```

```
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470                 475
```

<210> 44
<211> 1794
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC084 thể khảm (VL-VH 107-1A4 scFv-Fc-CH1 ở chuột)

<400> 44
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatgtccaga taacccagtc tccatcttat cttgctgcat ctcctggaga aaccattact 120

attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtatca agagaaacct 180

gggaaagcta ataagctact tatccattct ggatccactt tgcaatctgg aataccatca 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcactctca ccatcagtag cctggagcct 300

gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggtggt 360

ggcaccaaac tggaaattaa acgggccggc ggcggcggaa gcggcggtgg cggcagcagc 420

ggcggcggcg gcagcgagat ccagctgcaa cagtctggac ctgagctggt gaagcctggg 480

gcttcagtga agatgtcctg caaggcttct ggatacacat tcactgacta ctacatgcac 540

tgggtgaagc agaacaatgg agagagcctt gagtggattg gatattttaa tccttataat 600

gattatacta gatacaacca gaatttcaat ggcaaggcca cattgactgt agacaagtcc 660

tccagcacag cctacatgca gctcaacagc ctgacatctg aggactctgc attctattac 720

tgtgcaagat cggatggtta ctacgatgct atggactact ggggtcaagg aacctcagtc 780

accgtctcct cgagcgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag
ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc
caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac
cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc
cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca
ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg
cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc
ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta
cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt
gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa
atctagagcc 1500

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac
ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agccggtgac
ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca
gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac
ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt ttga
1794

<210> 45
<211> 1821
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC093 (Cris7 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 45

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

caggtccagc tggtgcagtc tgggggcgga gtggtgcagc ctgggcggtc
actgaggctg 120

tcctgcaagg cttctggcta cacctttact agatctacga tgcactgggt
aaggcaggcc 180

cctggaaagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gcagtgctta
tactaattac 240

aatcagaaat tcaaggacag gttcacaatc agcgcagaca aatccaagag
cacagccttc 300

ctgcagatgg acagcctgag gcccgaggac accggcgtct atttctgtgc
acggccccaa 360

gtccactatg attacaacgg gtttccttac tggggccaag ggactcccgt
cactgtctct 420

agcggtggcg gagggtctgg gggtggcgga tccggaggtg gtggctctgc
acaagacatc 480

cagatgaccc agtctccaag cagcctgtct gcaagcgtgg gggacagggt
caccatgacc 540

tgcagtgcca gctcaagtgt aagttacatg aactggtacc agcagaagcc
cggcaaggcc 600

cccaaaagat ggatttatga ctcatccaaa ctggcttctg gagtccctgc
tcgcttcagt 660

ggcagtgggt ctgggaccga ctataccctc acaatcagca gcctgcagcc
cgaagatttc 720

gccacttatt actgccagca gtggagtcgt aacccaccca cgttcggagg
ggggaccaag 780

ctacaaatta cacgctcgag tgagcccaaa tcttctgaca aaactcacac
atgcccaccg 840

tgcccagcac ctgaagccgc gggtgcaccg tcagtcttcc tcttcccccc
aaaacccaag 900

gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgga
cgtgagccac 960

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca
taatgccaag 1020

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt
cctcaccgtc 1080

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggcg tacgcgtgcg cggtctccaa
caaagccctc 1140

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga
accacaggtg 1200

tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct
gacctgcctg 1260

gtcaaaggct tctatccaag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg
gcagccggag 1320

aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt
cctctacagc 1380

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg
ctccgtgatg 1440

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc
gggtaaatct 1500

agaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca
gttgaaatct 1560

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat tacttctatc ccagagaggc
caaagtacag 1620

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgccac
agagcaggac 1680

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc gagctgacgc tgagcaaagc
agactacgag 1740

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc
cgtcacaaag 1800

agcttcaaca ggggagagtg a
1821

<210> 46
<211> 577
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC084 (VL-VH 107-1A4 scFv-Fc-CH1 ở chuột)

<400> 46

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

```
Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Gln
        115                 120                 125

Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
    130                 135                 140

Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
145                 150                 155                 160

Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Phe
                165                 170                 175

Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Asn Phe Asn Gly Lys
            180                 185                 190

Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
        195                 200                 205

Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Phe Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
    210                 215                 220

Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
225                 230                 235                 240
```

```
Thr Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460
```

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Arg Ala
465 470 475 480

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
485 490 495

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
500 505 510

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
515 520 525

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
530 535 540

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
545 550 555 560

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
565 570 575

Val

<210> 47
<211> 586
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC093 (Cris7 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 47

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

```
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln
    130                 135                 140

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr
145                 150                 155                 160

Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
                165                 170                 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
        195                 200                 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
    210                 215                 220

Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Leu Gln Ile Thr Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
                245                 250                 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
            260                 265                 270
```

```
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
        275                 280                 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
    290                 295                 300

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305                 310                 315                 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
                325                 330                 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala
            340                 345                 350

Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
        355                 360                 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
    370                 375                 380

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
385                 390                 395                 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
                405                 410                 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
            420                 425                 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
        435                 440                 445

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
    450                 455                 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
465                 470                 475                 480
```

```
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
                485                 490                 495

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Tyr Phe
            500                 505                 510

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
        515                 520                 525

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Ala Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
    530                 535                 540

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Glu Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
545                 550                 555                 560

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
                565                 570                 575

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
            580                 585
```

<210> 48
<211> 2283
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC194 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 48

```
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt       60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc      120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca      180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct      240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct      300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa      360
```

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtcagaggca
caacaattct 1500

tccctgaata caggaactca gatggcaggt cattctccga attctcaggt
ccagctggtg 1560

cagtctgggg gcggagtggt gcagcctggg cggtcactga ggctgtcctg
caaggcttct 1620

ggctacacct ttactagatc tacgatgcac tgggtaaggc aggcccctgg
aaagggtctg 1680

gaatggattg gatacattaa tcctagcagt gcttatacta attacaatca
gaaattcaag 1740

gacaggttca caatcagcgc agacaaatcc aagagcacag ccttcctgca
gatggacagc 1800

ctgaggcccg aggacaccgg cgtctatttc tgtgcacggc cccaagtcca
ctatgattac 1860

aacgggtttc cttactgggg ccaagggact cccgtcactg tctctagcgg
tggcggaggg 1920

tctgggggtg gcggatccgg aggtggtggc tctgcacaag acatccagat
gacccagtct 1980

ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctgcag
tgccagctca 2040

agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag aagcccggca aggcccccaa
aagatggatt 2100

tatgactcat ccaaactggc ttctggagtc cctgctcgct tcagtggcag
tgggtctggg 2160

accgactata ccctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac
ttattactgc 2220

cagcagtgga gtcgtaaccc acccacgttc ggaggggggga ccaagctaca
aattacacga 2280

taa
2283

<210> 49
<211> 740
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC194 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205
```

```
Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430
```

```
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn Asn Ser
465                 470                 475                 480

Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser Gln
                485                 490                 495

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
            500                 505                 510

Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr
        515                 520                 525

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
    530                 535                 540

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
545                 550                 555                 560

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu
                565                 570                 575

Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala
            580                 585                 590

Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
        595                 600                 605

Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    610                 615                 620

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
625                 630                 635                 640
```

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys
645 650 655

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
660 665 670

Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser
675 680 685

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
690 695 700

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
705 710 715 720

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
725 730 735

Gln Ile Thr Arg
740

<210> 50
<211> 2283
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC199 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 50
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctg aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggctaca 480

gtgaagatct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cagagaagtt ccagggcaga gtcaccataa ccgcggacac
gtctacagac 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtcagaggca
caacaattct 1500

tccctgaata caggaactca gatggcaggt cattctccga attctcaggt
ccagctggtg 1560

cagtctgggg gcggagtggt gcagcctggg cggtcactga ggctgtcctg
caaggcttct 1620

ggctacacct ttactagatc tacgatgcac tgggtaaggc aggcccctgg
aaagggtctg 1680

gaatggattg gatacattaa tcctagcagt gcttatacta attacaatca
gaaattcaag 1740

gacaggttca caatcagcgc agacaaatcc aagagcacag ccttcctgca
gatggacagc 1800

ctgaggcccg aggacaccgg cgtctatttc tgtgcacggc cccaagtcca
ctatgattac 1860

aacgggtttc cttactgggg ccaagggact cccgtcactg tctctagcgg
tggcggaggg 1920

tctgggggtg gcggatccgg aggtggtggc tctgcacaag acatccagat
gacccagtct 1980

ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctgcag
tgccagctca 2040

agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag aagcccggca aggcccccaa
aagatggatt 2100

tatgactcat ccaaactggc ttctggagtc cctgctcgct tcagtggcag
tgggtctggg 2160

accgactata ccctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac
ttattactgc 2220

cagcagtgga gtcgtaaccc acccacgttc ggaggggggga ccaagctaca
aattacacga 2280

taa
2283

<210> 51
<211> 740
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC199 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 51

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205
```

```
Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430
```

```
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn Asn Ser
465                 470                 475                 480

Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser Gln
                485                 490                 495

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
            500                 505                 510

Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr
        515                 520                 525

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
    530                 535                 540

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
545                 550                 555                 560

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu
                565                 570                 575

Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala
            580                 585                 590

Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
        595                 600                 605

Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    610                 615                 620

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
625                 630                 635                 640
```

```
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys
                645                 650                 655

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
            660                 665                 670

Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser
        675                 680                 685

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
    690                 695                 700

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
705                 710                 715                 720

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
                725                 730                 735

Gln Ile Thr Arg
            740
```

<210> 52
<211> 1800
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC125 (Cris7 scFv-Fc-CH1)

<400> 52
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

caggtccagc tggtgcagtc tgggggcgga gtggtgcagc ctgggcggtc
actgaggctg 120

tcctgcaagg cttctggcta cacctttact agatctacga tgcactgggt
aaggcaggcc 180

cctggaaagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gcagtgctta
tactaattac 240

aatcagaaat tcaaggacag gttcacaatc agcgcagaca aatccaagag
cacagccttc 300

ctgcagatgg acagcctgag gcccgaggac accggcgtct atttctgtgc
acggccccaa 360

gtccactatg attacaacgg gtttccttac tggggccaag ggactcccgt
cactgtctct 420

agcggtggcg gagggtctgg gggtggcgga tccggaggtg gtggctctgc
acaagacatc 480

cagatgaccc agtctccaag cagcctgtct gcaagcgtgg gggacagggt
caccatgacc 540

tgcagtgcca gctcaagtgt aagttacatg aactggtacc agcagaagcc
cggcaaggcc 600

cccaaaagat ggatttatga ctcatccaaa ctggcttctg gagtccctgc
tcgcttcagt 660

ggcagtgggt ctgggaccga ctataccctc acaatcagca gcctgcagcc
cgaagatttc 720

gccacttatt actgccagca gtggagtcgt aacccaccca cgttcggagg
ggggaccaag 780

ctacaaatta cacgctcgag tgagcccaaa tcttctgaca aaactcacac
atgcccaccg 840

tgcccagcac ctgaagccgc gggtgcaccg tcagtcttcc tcttcccccc
aaaacccaag 900

gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgga
cgtgagccac 960

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca
taatgccaag 1020

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt
cctcaccgtc 1080

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggcg tacgcgtgcg cggtctccaa
caaagccctc 1140

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga
accacaggtg 1200

tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct
gacctgcctg 1260

gtcaaaggct tctatccaag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg
gcagccggag 1320

aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt
cctctacagc 1380

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg
ctccgtgatg 1440

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc
gggtaaatct 1500

agagcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa
gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc
ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt
cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt
gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa
gaaagtttga 1800

<210> 53
<211> 1809
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC192 được mô phỏng theo người (huVL-VH#2
107-1A4 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 53
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatctag
aactgtggct 1500

gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt tgaaatctgg
aactgcctct 1560

gttgtgtgcc tgctgaatta cttctatccc agagaggcca aagtacagtg
gaaggtggat 1620

aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgccacag agcaggacag
caaggacagc 1680

acctacagcc tcagcagcga gctgacgctg agcaaagcag actacgagaa
acacaaagtc 1740

tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag
cttcaacagg 1800

ggagagtga
1809

<210> 54
<211> 1809
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC193 được mô phỏng theo người (huVL-VH#1
107-1A4 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 54
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctg aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggctaca 480

gtgaagatct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cagagaagtt ccagggcaga gtcaccataa ccgcggacac
gtctacagac 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatctag
aactgtggct 1500

gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt tgaaatctgg
aactgcctct 1560

gttgtgtgcc tgctgaatta cttctatccc agagaggcca aagtacagtg
gaaggtggat 1620

aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgccacag agcaggacag
caaggacagc 1680

acctacagcc tcagcagcga gctgacgctg agcaaagcag actacgagaa
acacaaagtc 1740

tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag
cttcaacagg 1800

ggagagtga
1809

<210> 55
<211> 1788
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC195 được mô phỏng theo người (huVL-VH#2
107-1A4 scFv-Fc-CH1)

<400> 55
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga
taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatctag
agcctccacc 1500

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg
gggcacagcg 1560

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagccgg tgacggtgtc
gtggaactca 1620

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc
aggactctac 1680

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac
ctacatctgc 1740

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagtttga
1788

<210> 56
<211> 1788

<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC196 được mô phỏng theo người (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-CH1)

<400> 56
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt 420

ggtggctctg aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc tggggctaca 480

gtgaagatct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg 540

caacaggccc ctggaaaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat 600

actagatacg cagagaagtt ccagggcaga gtcaccataa ccgcggacac gtctacagac 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatctag
agcctccacc 1500

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg
gggcacagcg 1560

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagccgg tgacggtgtc
gtggaactca 1620

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc
aggactctac 1680

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac
ctacatctgc 1740

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagtttga
1788

<210> 57
<211> 579
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC125 (Cris7 scFv-Fc-CH1)

<400> 57

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

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser
            20                  25                  30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln
    130                 135                 140

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr
145                 150                 155                 160

Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
                165                 170                 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
        195                 200                 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
    210                 215                 220
```

```
Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Leu Gln Ile Thr Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
                245                 250                 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val
            260                 265                 270

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
        275                 280                 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
    290                 295                 300

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305                 310                 315                 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
                325                 330                 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala
            340                 345                 350

Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
        355                 360                 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
    370                 375                 380

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
385                 390                 395                 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
                405                 410                 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
            420                 425                 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
        435                 440                 445
```

```
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
    450                 455                 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
465                 470                 475                 480

Arg Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                485                 490                 495

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            500                 505                 510

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        515                 520                 525

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    530                 535                 540

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
545                 550                 555                 560

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                565                 570                 575

Lys Lys Val
```

<210> 58
<211> 582
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC192 được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 58

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30
```

```
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240
```

```
Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460
```

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Arg Thr Val Ala
465 470 475 480

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
485 490 495

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Tyr Phe Tyr Pro Arg Glu
500 505 510

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
515 520 525

Gln Glu Ser Ala Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
530 535 540

Ser Ser Glu Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
545 550 555 560

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
565 570 575

Ser Phe Asn Arg Gly Glu
580

<210> 59
<211> 582
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC193 được mô phỏng theo người (huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-CkYAE)

<400> 59

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
195 200 205

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
210 215 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255

```
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Arg Thr Val Ala
465                 470                 475                 480
```

```
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
                485                 490                 495

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Tyr Phe Tyr Pro Arg Glu
            500                 505                 510

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
        515                 520                 525

Gln Glu Ser Ala Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
    530                 535                 540

Ser Ser Glu Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
545                 550                 555                 560

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
                565                 570                 575

Ser Phe Asn Arg Gly Glu
            580
```

<210> 60
<211> 575
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC195 được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-CH1)

<400> 60

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
```

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
195 200 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
210 215 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270

```
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Arg Ala Ser Thr
465                 470                 475                 480

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
                485                 490                 495
```

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
500 505 510

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
515 520 525

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
530 535 540

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
545 550 555 560

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
565 570 575

<210> 61
<211> 575
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> phân tử chọn TSC196 được mô phỏng theo người(huVL-VH#1 107-1A4 scFv-Fc-CH1)

<400> 61

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

```
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
```

305 310 315 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
325 330 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
340 345 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
355 360 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
370 375 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
405 410 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Arg Ala Ser Thr
465 470 475 480

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
485 490 495

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
500 505 510

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
515 520 525

```
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
    530                 535                 540

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
545                 550                 555                 560

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
                565                 570                 575
```

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H7

<400> 62

```
Gly Cys Pro Pro Cys Pro Asn Ser
1               5
```

<210> 63
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H75

<400> 63

```
Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly
1               5                   10                  15

His Ser Pro Asn Ser
            20
```

<210> 64
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H81

<400> 64

```
Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Ser Pro Asn Ser
1               5                   10
```

<210> 65

<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H83

<400> 65

Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 66
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H91

<400> 66

Asn Ser Leu Ala Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr
1 5 10 15

Ser Pro Asn Ser
20

<210> 67
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H94

<400> 67

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Pro Asn Ser

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết H98

<400> 68

Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Pro Asn Ser
1 5 10

<210> 69
<211> 1494
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC210-SMIP được mô phỏng theo người(VH#2-VL scFv-Fc ở người)

<400> 69
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

caggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc agtgaaggtc 120

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgacaggcc 180

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta tactagatac 240

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtctatcag cacagcctac 300

atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc aagatcggat 360

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcaggt 420

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca gatgacccag 480

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg ccgggcgagt 540

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt tcctaagctc 600

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag tggcagtgga 660

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt tgcaacttat 720

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa ggtggaaatc 780

aaacgcgcct cgagtgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag
ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc
caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac
cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc
cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca
ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg
cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc
ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta
cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt
gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga
1494

<210> 70
<211> 477
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC210-SMIP được mô phỏng theo người (VH#2-VL scFv-Fc ở người)

<400> 70

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
                165                 170                 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
    210                 215                 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225                 230                 235                 240

Lys Arg Ala Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270
```

```
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470                 475
```

<210> 71
<211> 1494

<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC211 SMIP được mô phỏng theo người(VH#1-VL scFv-Fc ở người)

<400> 71
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaagatc 120

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gcaacaggcc 180

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta tactagatac 240

gcagagaagt tccagggcag agtcaccata accgcggaca cgtctacaga cacagcctac 300

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatcggat 360

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcaggt 420

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca gatgacccag 480

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg ccgggcgagt 540

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt tcctaagctc 600

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag tggcagtgga 660

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt tgcaacttat 720

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa ggtggaaatc 780

aaacgagcct cgagtgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 1494

<210> 72
<211> 477
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC211 SMIP được mô phỏng theo người(VH#1-VL scFv-Fc ở người)

<400> 72

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

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

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
                165                 170                 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
    210                 215                 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225                 230                 235                 240

Lys Arg Ala Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285
```

```
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470                 475
```

<210> 73
<211> 2289
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> TSC212 Scorpion được mô phỏng theo người(hu VH#2-VL 107-1A4 scFv-Fc Cris7 scFv)

<400> 73
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

caggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcttc agtgaaggtc 120

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgacaggcc 180

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta tactagatac 240

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtctatcag cacagcctac 300

atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc aagatcggat 360

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcaggt 420

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca gatgacccag 480

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg ccgggcgagt 540

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt tcctaagctc 600

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag tggcagtgga 660

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt tgcaacttat 720

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa ggtggaaatc 780

aaacgcgcct cgagtgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac
cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc
cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca
ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg
cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc
ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta
cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt
gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtca
gaggcacaac 1500

aattcttccc tgaatacagg aactcagatg gcaggtcatt ctccgaattc
tcaggtccag 1560

ctggtgcagt ctgggggcgg agtggtgcag cctgggcggt cactgaggct
gtcctgcaag 1620

gcttctggct acacctttac tagatctacg atgcactggg taaggcaggc
ccctggaaag 1680

ggtctggaat ggattggata cattaatcct agcagtgctt atactaatta
caatcagaaa 1740

ttcaaggaca ggttcacaat cagcgcagac aaatccaaga gcacagcctt
cctgcagatg 1800

gacagcctga ggcccgagga caccggcgtc tatttctgtg cacggcccca
agtccactat 1860

gattacaacg ggtttcctta ctggggccaa gggactcccg tcactgtctc
tagcggtggc 1920

ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt ggtggctctg cacaagacat
ccagatgacc 1980

cagtctccaa gcagcctgtc tgcaagcgtg ggggacaggg tcaccatgac
ctgcagtgcc 2040

agctcaagtg taagttacat gaactggtac cagcagaagc ccggcaaggc
ccccaaaaga 2100

tggatttatg actcatccaa actggcttct ggagtccctg ctcgcttcag
tggcagtggg 2160

tctgggaccg actataccct cacaatcagc agcctgcagc ccgaagattt
cgccacttat 2220

tactgccagc agtggagtcg taacccaccc acgttcggag gggggaccaa
gctacaaatt 2280

acacgataa
2289

<210> 74
<211> 742
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC212 Scorpion được mô phỏng theo người(huVH#2-VL 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 74

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

```
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
                165                 170                 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
    210                 215                 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225                 230                 235                 240

Lys Arg Ala Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335
```

```
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn
465                 470                 475                 480

Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn
                485                 490                 495

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
            500                 505                 510

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
        515                 520                 525

Ser Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    530                 535                 540

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
545                 550                 555                 560
```

```
Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala
                565                 570                 575

Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe
            580                 585                 590

Cys Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp
        595                 600                 605

Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    610                 615                 620

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr
625                 630                 635                 640

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met
                645                 650                 655

Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln
            660                 665                 670

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu
        675                 680                 685

Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
    690                 695                 700

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
705                 710                 715                 720

Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr
                725                 730                 735

Lys Leu Gln Ile Thr Arg
            740
```

<210> 75
<211> 2289
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> TSC213 Scorpion được mô phỏng theo người(huVH#1-VL 107-1A4 scFv-FcCris7 scFv)

<400> 75
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gaggtccagc tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggctac agtgaagatc 120

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gcaacaggcc 180

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggatat tttaatcctt ataatgatta tactagatac 240

gcagagaagt tccagggcag agtcaccata accgcggaca cgtctacaga cacagcctac 300

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatcggat 360

ggttactacg atgctatgga ctactggggt caaggaacca cagtcaccgt ctcctcaggt 420

ggcggagggt ctgggggtgg cggatccgga ggtggtggct ctgatatcca gatgacccag 480

tctccatccg ccatgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg ccgggcgagt 540

aagagcatta gcaaatattt agcctggttt cagcagaaac cagggaaagt tcctaagctc 600

cgcatccatt ctggatctac tttgcaatca ggggtcccat ctcggttcag tggcagtgga 660

tctgggacag aatttactct caccatcagc agcctgcagc ctgaagattt tgcaacttat 720

tactgtcaac agcatattga atacccgtgg acgttcggcc aagggaccaa ggtggaaatc 780

aaacgagcct cgagtgagcc caaatcttct gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 840

gcacctgaag ccgcgggtgc accgtcagtc ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 960

cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020

ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac
cgtcctgcac 1080

caggactggc tgaatggcaa ggcgtacgcg tgcgcggtct ccaacaaagc
cctcccagcc 1140

cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca
ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg
cctggtcaaa 1260

ggcttctatc caagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc
ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta
cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt
gatgcatgag 1440

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtca
gaggcacaac 1500

aattcttccc tgaatacagg aactcagatg gcaggtcatt ctccgaattc
tcaggtccag 1560

ctggtgcagt ctgggggcgg agtggtgcag cctgggcggt cactgaggct
gtcctgcaag 1620

gcttctggct acacctttac tagatctacg atgcactggg taaggcaggc
ccctggaaag 1680

ggtctggaat ggattggata cattaatcct agcagtgctt atactaatta
caatcagaaa 1740

ttcaaggaca ggttcacaat cagcgcagac aaatccaaga gcacagcctt
cctgcagatg 1800

gacagcctga ggcccgagga caccggcgtc tatttctgtg cacggcccca
agtccactat 1860

gattacaacg ggtttcctta ctggggccaa gggactcccg tcactgtctc
tagcggtggc 1920

ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt ggtggctctg cacaagacat
ccagatgacc 1980

cagtctccaa gcagcctgtc tgcaagcgtg ggggacaggg tcaccatgac
ctgcagtgcc 2040

agctcaagtg taagttacat gaactggtac cagcagaagc ccggcaaggc
ccccaaaaga 2100

tggatttatg actcatccaa actggcttct ggagtccctg ctcgcttcag
tggcagtggg 2160

tctgggaccg actatacccct cacaatcagc agcctgcagc ccgaagattt
cgccacttat 2220

tactgccagc agtggagtcg taacccaccc acgttcggag gggggaccaa
gctacaaatt 2280

acacgataa
2289

<210> 76
<211> 742
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC213 Scorpion được mô phỏng theo người (huVH#1-VL 107-1A4 scFv-Fc-Cris7 scFv)

<400> 76

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

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

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

```
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
                165                 170                 175

Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
        195                 200                 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
    210                 215                 220

His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225                 230                 235                 240

Lys Arg Ala Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335
```

```
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala
            340                 345                 350

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
                405                 410                 415

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn
465                 470                 475                 480

Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn
                485                 490                 495

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly
            500                 505                 510

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
        515                 520                 525

Ser Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    530                 535                 540

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
545                 550                 555                 560
```

```
Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala
                565                 570                 575

Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe
            580                 585                 590

Cys Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp
        595                 600                 605

Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    610                 615                 620

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr
625                 630                 635                 640

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met
                645                 650                 655

Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln
            660                 665                 670

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu
        675                 680                 685

Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
    690                 695                 700

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
705                 710                 715                 720

Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr
                725                 730                 735

Lys Leu Gln Ile Thr Arg
            740
```

<210> 77
<211> 2289
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> TSC249 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-FC-DRA222 scFv)

<400> 77
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtcagaggca
caacaattct 1500

tccctgaata caggaactca gatggcaggt cattctccga attctcaggt
ccagctggtg 1560

gagtctgggg gcggagtggt gcagcctggg cggtcactga ggctgtcctg
caaggcttct 1620

ggctacacct ttactagatc tacgatgcac tgggtaaggc aggcccctgg
acaaggtctg 1680

gaatggattg gatacattaa tcctagcagt gcttatacta attacaatca
gaaattcaag 1740

gacaggttca caatcagcgc agacaaatcc aagagcacag ccttcctgca
gatggacagc 1800

ctgaggcccg aggacaccgg cgtctatttc tgtgcacggc cccaagtcca
ctatgattac 1860

aacgggtttc cttactgggg ccaagggact cccgtcactg tctctagcgg
tggcggaggg 1920

tctgggggtg gcggatccgg aggtggtggc tctgcacaag acatccagat
gacccagtct 1980

ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctgcag
tgccagctca 2040

agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag aagccgggca aggcccccaa
aagatggatt 2100

tatgactcat ccaaactggc ttctggagtc cctgctcgct tcagtggcag
tgggtctggg 2160

accgactata ccctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac
ttattactgc 2220

cagcagtgga gtcgtaaccc acccacgttc ggaggggggga ccaagctaca
aattacatcc 2280

tccagctaa
2289

<210> 78
<211> 742
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC249 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv)

<400> 78

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

```
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335
```

```
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn Asn Ser
465                 470                 475                 480

Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser Gln
                485                 490                 495

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
            500                 505                 510

Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr
        515                 520                 525

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
    530                 535                 540

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
545                 550                 555                 560
```

```
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu
                565                 570                 575

Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala
            580                 585                 590

Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
        595                 600                 605

Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    610                 615                 620

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
625                 630                 635                 640

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys
                645                 650                 655

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
            660                 665                 670

Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser
        675                 680                 685

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
    690                 695                 700

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
705                 710                 715                 720

Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
                725                 730                 735

Gln Ile Thr Ser Ser Ser
            740
```

<210> 79
<211> 2268
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> TSC250 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H81)

<400> 79
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtgaagttca
aattcccttg 1500

accgaaagtt acagcccgaa ttctcaggtc cagctggtgg agtctggggg
cggagtggtg 1560

cagcctgggc ggtcactgag gctgtcctgc aaggcttctg gctacacctt
tactagatct 1620

acgatgcact gggtaaggca ggcccctgga caaggtctgg aatggattgg
atacattaat 1680

cctagcagtg cttatactaa ttacaatcag aaattcaagg acaggttcac
aatcagcgca 1740

gacaaatcca agagcacagc cttcctgcag atggacagcc tgaggcccga
ggacaccggc 1800

gtctatttct gtgcacggcc ccaagtccac tatgattaca acgggtttcc
ttactggggc 1860

caagggactc ccgtcactgt ctctagcggt ggcggagggt ctgggggtgg
cggatccgga 1920

ggtggtggct ctgcacaaga catccagatg acccagtctc caagcagcct
gtctgcaagc 1980

gtgggggaca gggtcaccat gacctgcagt gccagctcaa gtgtaagtta
catgaactgg 2040

taccagcaga agccgggcaa ggcccccaaa agatggattt atgactcatc caaactggct 2100

tctggagtcc ctgctcgctt cagtggcagt gggtctggga ccgactatac cctcacaatc 2160

agcagcctgc agcccgaaga tttcgccact tattactgcc agcagtggag tcgtaaccca 2220

cccacgttcg gaggggggac caagctacaa attacatcct ccagctaa 2268

<210> 80
<211> 1335
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC250 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
Với liên kết H81)

<400> 80

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

```
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335
```

```
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Val Gln Ile Pro Leu
465                 470                 475                 480

Thr Glu Ser Tyr Ser Pro Asn Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                485                 490                 495

Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala
            500                 505                 510

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala
        515                 520                 525

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala
    530                 535                 540

Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala
545                 550                 555                 560
```

```
Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro
                565                 570                 575

Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp
            580                 585                 590

Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
        595                 600                 605

Ser Ala Met Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
    610                 615                 620

Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro
625                 630                 635                 640

Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
                645                 650                 655

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
            660                 665                 670

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
        675                 680                 685

Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
    690                 695                 700

Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
705                 710                 715                 720

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
                725                 730                 735

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
            740                 745                 750

Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
        755                 760                 765
```

```
Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala
    770                 775                 780

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
785                 790                 795                 800

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
                805                 810                 815

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp
            820                 825                 830

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser
        835                 840                 845

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
    850                 855                 860

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
865                 870                 875                 880

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
                885                 890                 895

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
            900                 905                 910

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
        915                 920                 925

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
    930                 935                 940

Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
945                 950                 955                 960

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
                965                 970                 975

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
            980                 985                 990
```

```
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  Tyr Pro Ser Asp Ile  Ala Val
Glu
       995                 1000                1005

Trp Glu  Ser Asn Gly Gln Pro  Glu Asn Asn Tyr Lys  Thr Thr Pro
    1010                1015                1020

Pro Val  Leu Asp Ser Asp Gly  Ser Phe Phe Leu Tyr  Ser Lys Leu
    1025                1030                1035

Thr Val  Asp Lys Ser Arg Trp  Gln Gln Gly Asn Val  Phe Ser Cys
    1040                1045                1050

Ser Val  Met His Glu Ala Leu  His Asn His Tyr Thr  Gln Lys Ser
    1055                1060                1065

Leu Ser  Leu Ser Pro Gly Glu  Val Gln Ile Pro Leu  Thr Glu Ser
    1070                1075                1080

Tyr Ser  Pro Asn Ser Gln Val  Gln Leu Val Glu Ser  Gly Gly Gly
    1085                1090                1095

Val Val  Gln Pro Gly Arg Ser  Leu Arg Leu Ser Cys  Lys Ala Ser
    1100                1105                1110

Gly Tyr  Thr Phe Thr Arg Ser  Thr Met His Trp Val  Arg Gln Ala
    1115                1120                1125

Pro Gly  Gln Gly Leu Glu Trp  Ile Gly Tyr Ile Asn  Pro Ser Ser
    1130                1135                1140

Ala Tyr  Thr Asn Tyr Asn Gln  Lys Phe Lys Asp Arg  Phe Thr Ile
    1145                1150                1155

Ser Ala  Asp Lys Ser Lys Ser  Thr Ala Phe Leu Gln  Met Asp Ser
    1160                1165                1170

Leu Arg  Pro Glu Asp Thr Gly  Val Tyr Phe Cys Ala  Arg Pro Gln
    1175                1180                1185
```

```
Val His  Tyr Asp Tyr Asn Gly  Phe Pro Tyr Trp Gly  Gln Gly Thr
    1190                 1195                 1200

Pro Val  Thr Val Ser Ser Gly  Gly Gly Gly Ser Gly  Gly Gly Gly
    1205                 1210                 1215

Ser Gly  Gly Gly Gly Ser Ala  Gln Asp Ile Gln Met  Thr Gln Ser
    1220                 1225                 1230

Pro Ser  Ser Leu Ser Ala Ser  Val Gly Asp Arg Val  Thr Met Thr
    1235                 1240                 1245

Cys Ser  Ala Ser Ser Ser Val  Ser Tyr Met Asn Trp  Tyr Gln Gln
    1250                 1255                 1260

Lys Pro  Gly Lys Ala Pro Lys  Arg Trp Ile Tyr Asp  Ser Ser Lys
    1265                 1270                 1275

Leu Ala  Ser Gly Val Pro Ala  Arg Phe Ser Gly Ser  Gly Ser Gly
    1280                 1285                 1290

Thr Asp  Tyr Thr Leu Thr Ile  Ser Ser Leu Gln Pro  Glu Asp Phe
    1295                 1300                 1305

Ala Thr  Tyr Tyr Cys Gln Gln  Trp Ser Arg Asn Pro  Pro Thr Phe
    1310                 1315                 1320

Gly Gly  Gly Thr Lys Leu Gln  Ile Thr Ser Ser Ser
    1325                 1330                 1335
```

<210> 81
<211> 2274
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC251 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
Với liên kết H83)

<400> 81
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gttcttccct
gaatacagga 1500

actcagatgg caggtcattc tccgaattct caggtccagc tggtggagtc
tgggggcgga 1560

gtggtgcagc ctgggcggtc actgaggctg tcctgcaagg cttctggcta
caccttttact 1620

agatctacga tgcactgggt aaggcaggcc cctggacaag gtctggaatg
gattggatac 1680

attaatccta gcagtgctta tactaattac aatcagaaat tcaaggacag
gttcacaatc 1740

agcgcagaca aatccaagag cacagccttc ctgcagatgg acagcctgag
gcccgaggac 1800

accggcgtct atttctgtgc acggccccaa gtccactatg attacaacgg
gtttccttac 1860

tggggccaag ggactcccgt cactgtctct agcggtggcg gagggtctgg
gggtggcgga 1920

tccggaggtg gtggctctgc acaagacatc cagatgaccc agtctccaag
cagcctgtct 1980

gcaagcgtgg gggacagggt caccatgacc tgcagtgcca gctcaagtgt
aagttacatg 2040

aactggtacc agcagaagcc gggcaaggcc cccaaaagat ggatttatga
ctcatccaaa 2100

ctggcttctg gagtccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggaccga
ctataccctc 2160

acaatcagca gcctgcagcc cgaagatttc gccacttatt actgccagca
gtggagtcgt 2220

aacccaccca cgttcggagg ggggaccaag ctacaaatta catcctccag ctaa
2274

<210> 82
<211> 737
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC251 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H83)

<400> 82

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

```
Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380
```

```
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Ser Leu Asn Thr Gly
465                 470                 475                 480

Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
                485                 490                 495

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
            500                 505                 510

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His Trp Val Arg
        515                 520                 525

Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser
    530                 535                 540

Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile
545                 550                 555                 560

Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu
                565                 570                 575

Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Gln Val His
            580                 585                 590
```

Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
595 600 605

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
610 615 620

Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
625 630 635 640

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser
645 650 655

Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
660 665 670

Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
675 680 685

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser
690 695 700

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg
705 710 715 720

Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Ser Ser
725 730 735

Ser

<210> 83
<211> 2286
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC252 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H91)

<400> 83
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca
gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg
ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaactcatt
agcaaaccaa 1500

gaagttcaaa ttcccttgac cgaaagttac agcccgaatt ctcaggtcca
gctggtggag 1560

tctgggggcg gagtggtgca gcctgggcgg tcactgaggc tgtcctgcaa
ggcttctggc 1620

tacaccttta ctagatctac gatgcactgg gtaaggcagg cccctggaca
aggtctggaa 1680

tggattggat acattaatcc tagcagtgct tatactaatt acaatcagaa
attcaaggac 1740

aggttcacaa tcagcgcaga caaatccaag agcacagcct tcctgcagat
ggacagcctg 1800

aggcccgagg acaccggcgt ctatttctgt gcacggcccc aagtccacta
tgattacaac 1860

gggtttcctt actggggcca agggactccc gtcactgtct ctagcggtgg
cggagggtct 1920

gggggtggcg gatccggagg tggtggctct gcacaagaca tccagatgac
ccagtctcca 1980

agcagcctgt ctgcaagcgt gggggacagg gtcaccatga cctgcagtgc
cagctcaagt 2040

gtaagttaca tgaactggta ccagcagaag ccgggcaagg cccccaaaag
atggatttat 2100

gactcatcca aactggcttc tggagtccct gctcgcttca gtggcagtgg
gtctgggacc 2160

gactataccc tcacaatcag cagcctgcag cccgaagatt tcgccactta
ttactgccag 2220

cagtggagtc gtaacccacc cacgttcgga gggggggacca agctacaaat
tacatcctcc 2280

agctaa
2286

<210> 84
<211> 1478
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC252 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
Với liên kết H91)

<400> 84

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

```
Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365
```

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
370 375 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
405 410 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Ser Leu Asn Thr Gly
465 470 475 480

Thr Gln Met Ala Gly His Ser Pro Asn Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
485 490 495

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
500 505 510

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His Trp Val Arg
515 520 525

Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser
530 535 540

Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile
545 550 555 560

Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu
565 570 575

Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Gln Val His
580 585 590

```
Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
        595                 600                 605

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    610                 615                 620

Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
625                 630                 635                 640

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser
                645                 650                 655

Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
            660                 665                 670

Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
        675                 680                 685

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser
    690                 695                 700

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg
705                 710                 715                 720

Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Ser Ser
                725                 730                 735

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala Met Ser Ala Ser Val
            740                 745                 750

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys
        755                 760                 765

Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg
    770                 775                 780

Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
785                 790                 795                 800
```

```
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
                805                 810                 815

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro
            820                 825                 830

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly
        835                 840                 845

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
    850                 855                 860

Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
865                 870                 875                 880

Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp
                885                 890                 895

Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn
            900                 905                 910

Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val
        915                 920                 925

Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser
    930                 935                 940

Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp
945                 950                 955                 960

Gly Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
                965                 970                 975

Val Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            980                 985                 990

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala  Gly Ala Pro Ser Val  Phe Leu
Phe
        995                 1000                1005
```

```
Pro Pro  Lys Pro Lys Asp Thr  Leu Met Ile Ser Arg  Thr Pro Glu
    1010                1015                1020

Val Thr  Cys Val Val Val Asp  Val Ser His Glu Asp  Pro Glu Val
    1025                1030                1035

Lys Phe  Asn Trp Tyr Val Asp  Gly Val Glu Val His  Asn Ala Lys
    1040                1045                1050

Thr Lys  Pro Arg Glu Glu Gln  Tyr Asn Ser Thr Tyr  Arg Val Val
    1055                1060                1065

Ser Val  Leu Thr Val Leu His  Gln Asp Trp Leu Asn  Gly Lys Ala
    1070                1075                1080

Tyr Ala  Cys Ala Val Ser Asn  Lys Ala Leu Pro Ala  Pro Ile Glu
    1085                1090                1095

Lys Thr  Ile Ser Lys Ala Lys  Gly Gln Pro Arg Glu  Pro Gln Val
    1100                1105                1110

Tyr Thr  Leu Pro Pro Ser Arg  Asp Glu Leu Thr Lys  Asn Gln Val
    1115                1120                1125

Ser Leu  Thr Cys Leu Val Lys  Gly Phe Tyr Pro Ser  Asp Ile Ala
    1130                1135                1140

Val Glu  Trp Glu Ser Asn Gly  Gln Pro Glu Asn Asn  Tyr Lys Thr
    1145                1150                1155

Thr Pro  Pro Val Leu Asp Ser  Asp Gly Ser Phe Phe  Leu Tyr Ser
    1160                1165                1170

Lys Leu  Thr Val Asp Lys Ser  Arg Trp Gln Gln Gly  Asn Val Phe
    1175                1180                1185

Ser Cys  Ser Val Met His Glu  Ala Leu His Asn His  Tyr Thr Gln
    1190                1195                1200

Lys Ser  Leu Ser Leu Ser Pro  Gly Asn Ser Leu Ala  Asn Gln Glu
    1205                1210                1215
```

```
Val Gln  Ile Pro Leu Thr Glu  Ser Tyr Ser Pro Asn  Ser Gln Val
    1220                 1225                 1230

Gln Leu  Val Glu Ser Gly Gly  Gly Val Val Gln Pro  Gly Arg Ser
    1235                 1240                 1245

Leu Arg  Leu Ser Cys Lys Ala  Ser Gly Tyr Thr Phe  Thr Arg Ser
    1250                 1255                 1260

Thr Met  His Trp Val Arg Gln  Ala Pro Gly Gln Gly  Leu Glu Trp
    1265                 1270                 1275

Ile Gly  Tyr Ile Asn Pro Ser  Ser Ala Tyr Thr Asn  Tyr Asn Gln
    1280                 1285                 1290

Lys Phe  Lys Asp Arg Phe Thr  Ile Ser Ala Asp Lys  Ser Lys Ser
    1295                 1300                 1305

Thr Ala  Phe Leu Gln Met Asp  Ser Leu Arg Pro Glu  Asp Thr Gly
    1310                 1315                 1320

Val Tyr  Phe Cys Ala Arg Pro  Gln Val His Tyr Asp  Tyr Asn Gly
    1325                 1330                 1335

Phe Pro  Tyr Trp Gly Gln Gly  Thr Pro Val Thr Val  Ser Ser Gly
    1340                 1345                 1350

Gly Gly  Gly Ser Gly Gly Gly  Gly Ser Gly Gly Gly  Gly Ser Ala
    1355                 1360                 1365

Gln Asp  Ile Gln Met Thr Gln  Ser Pro Ser Ser Leu  Ser Ala Ser
    1370                 1375                 1380

Val Gly  Asp Arg Val Thr Met  Thr Cys Ser Ala Ser  Ser Ser Val
    1385                 1390                 1395

Ser Tyr  Met Asn Trp Tyr Gln  Gln Lys Pro Gly Lys  Ala Pro Lys
    1400                 1405                 1410
```

Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala
1415 1420 1425

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
1430 1435 1440

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
1445 1450 1455

Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln
1460 1465 1470

Ile Thr Ser Ser Ser
1475

<210> 85
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> trình tự tín hiệu kích thích bài tiết

<400> 85

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
20

<210> 86
<211> 106
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> trình tự axit amin HuM291 VL

<400> 86

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr
35 40 45

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 87
<211> 120
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> trình tự axit amino HuM291 VH

<400> 87

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

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối sss(s)-hlgG1

<400> 88

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

<210> 89
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối csc(s)-hlgG1

<400> 89

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối ssc(s)-hlgG1

<400> 90

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 91
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối scc(s)-hlgG1

<400> 91

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 92
<211> 15

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối css(s)-hlgG1

<400> 92

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

<210> 93
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối scs(s)-hlgG1

<400> 93

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

<210> 94
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối ccc(s)-hlgG1

<400> 94

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 95
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối ccc(p)-hlgG1

<400> 95

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 96
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối sss(p)-hlgG1

<400> 96

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro
1 5 10 15

<210> 97
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối csc(p)-hlgG1

<400> 97

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 98
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối ssc(p)-hlgG1

<400> 98

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 99
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối scc(p)-hlgG1

<400> 99

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 100
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối css(p)-hlgG1

<400> 100

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro
1 5 10 15

<210> 101
<211> 15

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> khớp nối scs(p)-hlgG1

<400> 101

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Ser Pro
1 5 10 15

<210> 102
<211> 6
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> Scppcp

<400> 102

Ser Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 103
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> STD1

<400> 103

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Asn Ser
20

<210> 104
<211> 38
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> STD2

<400> 104

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Asn Ser
35

<210> 105
<211> 2
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H1

<400> 105

Asn Ser
1

<210> 106
<211> 8
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H2

<400> 106

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser
1 5

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H3

<400> 107

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser
1 5 10

<210> 108
<211> 13
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H4

<400> 108

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser
1 5 10

<210> 109
<211> 15

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H5

<400> 109

Asn Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 110
<211> 18
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H6

<400> 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Asn Ser

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> (G4S)3

<400> 111

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 112
<211> 17
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> (GAS)4

<400> 112

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser

<210> 113
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H16

<400> 113

Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Leu Thr Pro Ser Ile Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 114
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H17

<400> 114

Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Leu Thr Pro Ser Ile Ser Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 115
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H18

<400> 115

Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 116
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H19

<400> 116

Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Ser Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 117
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H20

<400> 117

Leu Lys Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Asn Ser
1 5 10 15

<210> 118
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H21

<400> 118

Leu Lys Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 119
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H22

<400> 119

Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro His Ile Gln Asn Ser
1 5 10 15

<210> 120
<211> 21
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H23

<400> 120

Leu Asp Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro His Ile Gln Ser Cys Pro
1 5 10 15

Pro Cys Pro Asn Ser
20

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H24

<400> 121

Arg Glu Gln Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Leu Lys Ala Asn Ser
1 5 10 15

<210> 122
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H25

<400> 122

Arg Glu Gln Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Leu Lys Ala Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H26

<400> 123

Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Ser
1 5 10 15

<210> 124
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H27

<400> 124

Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H28

<400> 125

Asp Thr Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Ser Asn Ser
1 5 10 15

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H30

<400> 126

Leu Pro Pro Glu Thr Gln Glu Ser Gln Glu Val Thr Leu Asn Ser
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H32

<400> 127

Arg Ile His Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 128
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H33

<400> 128

Arg Ile His Leu Asn Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 129
<211> 13
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H36

<400> 129

Gly Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gly Gly Gly Ser Asn Ser
1 5 10

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H40

<400> 130

Gly Cys Pro Pro Cys Pro Ala Asn Ser
1 5

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H41

<400> 131

Gly Cys Pro Pro Cys Pro Ala Asn Ser
1 5

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H42

<400> 132

Gly Cys Pro Pro Cys Pro Asn Ser
1 5

<210> 133
<211> 13

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H44

<400> 133

Gly Gly Gly Ala Ser Cys Pro Pro Cys Pro Gly Asn Ser
1 5 10

<210> 134
<211> 13
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H45

<400> 134

Gly Gly Gly Ala Ser Cys Pro Pro Cys Ala Gly Asn Ser
1 5 10

<210> 135
<211> 12
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H46

<400> 135

Gly Gly Gly Ala Ser Cys Pro Pro Cys Ala Asn Ser
1 5 10

<210> 136
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H47

<400> 136

Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Leu Thr Pro Ser Ile Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 137
<211> 11
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H48

<400> 137

Ala Asp Phe Leu Thr Pro Ser Ile Gly Asn Ser
1 5 10

<210> 138
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H50

<400> 138

Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 139
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H51

<400> 139

Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Gly Asn Ser
1 5 10 15

<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H52

<400> 140

Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ser
1 5 10

<210> 141
<211> 16
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H53

<400> 141

Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Cys Pro Pro Cys Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 142
<211> 19

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H54

<400> 142

Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Ser Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15

Pro Asn Ser

<210> 143
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H55

<400> 143

Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Ser
1 5 10 15

<210> 144
<211> 12
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H56

<400> 144

Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Ser
1 5 10

<210> 145
<211> 10
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H57

<400> 145

Val Ser Glu Arg Pro Phe Pro Pro Asn Ser
1 5 10

<210> 146
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> H58

<400> 146

Lys Pro Phe Phe Thr Cys Gly Ser Ala Asp Thr Cys Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 147
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H59

<400> 147

Lys Pro Phe Phe Thr Cys Gly Ser Ala Asp Thr Cys Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 148
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H60

<400> 148

Gln Tyr Asn Cys Pro Gly Gln Tyr Thr Phe Ser Met Pro Asn Ser
1 5 10 15

<210> 149
<211> 21
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H61

<400> 149

Glu Pro Ala Phe Thr Pro Gly Pro Asn Ile Glu Leu Gln Lys Asp Ser
1 5 10 15

Asp Cys Pro Asn Ser
20

<210> 150
<211> 21
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H62

<400> 150

Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Arg Thr Gln Lys Ala Arg
1 5 10 15

His Cys Pro Asn Ser
20

<210> 151
<211> 20
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> H63

<400> 151

Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr
1 5 10 15

Cys Pro Asn Ser
20

<210> 152
<211> 15
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> liên kết peptit

<400> 152

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 153
<211> 107
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> VL amino acid

<400> 153

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

```
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Thr Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg
            100                 105
```

<210> 154
<211> 121
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> amino axit VH

<400> 154

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser
            20                  25                  30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Ser Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> Vùng khớp nối H-105

<400> 155

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 156
<211> 18
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> Vùng khớp nối H106 (có nguồn gốc NKG2A)

<400> 156

Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly
1 5 10 15

His Ser

<210> 157
<211> 2250
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC95 Scorpion được mô phỏng theo người(hu VL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H9)

<400> 157
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag
cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtgggagccc
accttcaccg 1500

aattctcagg tccagctggt ggagtctggg ggcggagtgg tgcagcctgg
gcggtcactg 1560

aggctgtcct gcaaggcttc tggctacacc tttactagat ctacgatgca
ctgggtaagg 1620

caggcccctg gacaaggtct ggaatggatt ggatacatta atcctagcag
tgcttatact 1680

aattacaatc agaaattcaa ggacaggttc acaatcagcg cagacaaatc
caagagcaca 1740

gccttcctgc agatggacag cctgaggccc gaggacaccg gcgtctattt
ctgtgcacgg 1800

ccccaagtcc actatgatta caacgggttt ccttactggg gccaagggac
tcccgtcact 1860

gtctctagcg gtggcggagg gtctgggggt ggcggatccg gaggtggtgg
ctctgcacaa 1920

gacatccaga tgacccagtc tccaagcagc ctgtctgcaa gcgtggggga
cagggtcacc 1980

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggtaccagca
gaagccgggc 2040

aaggccccca aaagatggat ttatgactca tccaaactgg cttctggagt
ccctgctcgc 2100

ttcagtggca gtgggtctgg gaccgactat accctcacaa tcagcagcct
gcagcccgaa 2160

gatttcgcca cttattactg ccagcagtgg agtcgtaacc cacccacgtt
cggaggggggg 2220

accaagctac aaattacatc ctccagctaa
2250

<210> 158
<211> 729
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>

<223> TSC295 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H9)

<400> 158

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

```
Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415
```

```
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Ser Pro Pro Ser Pro
465                 470                 475                 480

Asn Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
                485                 490                 495

Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
            500                 505                 510

Arg Ser Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
        515                 520                 525

Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln
    530                 535                 540

Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr
545                 550                 555                 560

Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr
                565                 570                 575

Phe Cys Ala Arg Pro Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr
            580                 585                 590

Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        595                 600                 605

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met
    610                 615                 620
```

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
625 630 635 640

Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln
645 650 655

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys
660 665 670

Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
675 680 685

Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
690 695 700

Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly
705 710 715 720

Thr Lys Leu Gln Ile Thr Ser Ser Ser
725

<210> 159
<211> 2283
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC296 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H94)

<400> 159
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gttctggtgg
aggcggttca 1500

ggcggaggtg gctccggcgg tggcggatcg ccgaattctc aggtccagct
ggtggagtct 1560

gggggcggag tggtgcagcc tgggcggtca ctgaggctgt cctgcaaggc
ttctggctac 1620

acctttacta gatctacgat gcactgggta aggcaggccc ctggacaagg
tctggaatgg 1680

attggataca ttaatcctag cagtgcttat actaattaca atcagaaatt
caaggacagg 1740

ttcacaatca gcgcagacaa atccaagagc acagccttcc tgcagatgga
cagcctgagg 1800

cccgaggaca ccggcgtcta tttctgtgca cggccccaag tccactatga
ttacaacggg 1860

tttccttact ggggccaagg gactcccgtc actgtctcta gcggtggcgg
agggtctggg 1920

ggtggcggat ccggaggtgg tggctctgca caagacatcc agatgaccca
gtctccaagc 1980

agcctgtctg caagcgtggg ggacagggtc accatgacct gcagtgccag
ctcaagtgta 2040

agttacatga actggtacca gcagaagccg ggcaaggccc ccaaaagatg
gatttatgac 2100

tcatccaaac tggcttctgg agtccctgct cgcttcagtg gcagtgggtc
tgggaccgac 2160

tataccctca caatcagcag cctgcagccc gaagatttcg ccacttatta
ctgccagcag 2220

tggagtcgta acccacccac gttcggaggg gggaccaagc tacaaattac
atcctccagc 2280

taa
2283

<210> 160
<211> 740
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC296 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H94)

<400> 160

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
115 120 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
130 135 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
165 170 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
180 185 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
195 200 205

```
Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415
```

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro Asn Ser Gln Val Gln
485 490 495

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
500 505 510

Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His
515 520 525

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile
530 535 540

Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg
545 550 555 560

Phe Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met
565 570 575

Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro
580 585 590

Gln Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
595 600 605

Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
625 630 635 640

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala
645 650 655

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
660 665 670

Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val
675 680 685

Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr
690 695 700

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
705 710 715 720

Trp Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile
725 730 735

Thr Ser Ser Ser
740

<210> 161
<211> 2274
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC301 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H105)

<400> 161
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac
gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gttctggtgg
aggcggttca 1500

ggcggaggtg gctccggcgg tggcggatcg caggtccagc tggtggagtc
tgggggcgga 1560

gtggtgcagc ctgggcggtc actgaggctg tcctgcaagg cttctggcta
caccttttact 1620

agatctacga tgcactgggt aaggcaggcc cctggacaag gtctggaatg
gattggatac 1680

attaatccta gcagtgctta tactaattac aatcagaaat tcaaggacag
gttcacaatc 1740

agcgcagaca aatccaagag cacagccttc ctgcagatgg acagcctgag
gcccgaggac 1800

accggcgtct atttctgtgc acggccccaa gtccactatg attacaacgg
gtttccttac 1860

tggggccaag ggactcccgt cactgtctct agcggtggcg gagggtctgg
gggtggcgga 1920

tccggaggtg gtggctctgc acaagacatc cagatgaccc agtctccaag
cagcctgtct 1980

gcaagcgtgg gggacagggt caccatgacc tgcagtgcca gctcaagtgt
aagttacatg 2040

aactggtacc agcagaagcc gggcaaggcc cccaaaagat ggatttatga
ctcatccaaa 2100

ctggcttctg gagtccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggaccga
ctataccctc 2160

acaatcagca gcctgcagcc cgaagatttc gccacttatt actgccagca
gtggagtcgt 2220

aacccaccca cgttcggagg ggggaccaag ctacaaatta catcctccag ctaa
2274

<210> 162
<211> 737
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC301 Scorpion được mô phỏng theo người(huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H105)

<400> 162

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205
```

```
Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220

Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430
```

```
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
465                 470                 475                 480

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
                485                 490                 495

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
            500                 505                 510

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His Trp Val Arg
        515                 520                 525

Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser
    530                 535                 540

Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile
545                 550                 555                 560

Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu
                565                 570                 575

Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Gln Val His
            580                 585                 590

Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
        595                 600                 605

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    610                 615                 620

Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
625                 630                 635                 640
```

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser
645 650 655

Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
660 665 670

Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
675 680 685

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser
690 695 700

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Arg
705 710 715 720

Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Ser Ser
725 730 735

Ser

<210> 163
<211> 2280
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC302 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H106)

<400> 163
atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60

gatatccaga tgacccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120

atcacttgcc gggcgagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180

gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccatct 240

cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360

gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggtctg ggggtggcgg
atccggaggt 420

ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc
tggggcttca 480

gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat
gcactgggtg 540

cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta
taatgattat 600

actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac
gtctatcagc 660

acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta
ttactgtgca 720

agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac
agtcaccgtc 780

tcctcgagtg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gcccaccgtg
cccagcacct 840

gaagccgcgg gtgcaccgtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga
caccctcatg 900

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga
agaccctgag 960

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac
aaagccgcgg 1020

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct
gcaccaggac 1080

tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc
agcccccatc 1140

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta
caccctgccc 1200

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt
caaaggcttc 1260

tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa
caactacaag 1320

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa
gctcaccgtg 1380

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca
tgaggctctg 1440

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtcagaggca
caacaattct 1500

tccctgaata caggaactca gatggcaggt cattctcagg tccagctggt
ggagtctggg 1560

ggcggagtgg tgcagcctgg gcggtcactg aggctgtcct gcaaggcttc
tggctacacc 1620

tttactagat ctacgatgca ctgggtaagg caggcccctg gacaaggtct
ggaatggatt 1680

ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa
ggacaggttc 1740

acaatcagcg cagacaaatc caagagcaca gccttcctgc agatggacag
cctgaggccc 1800

gaggacaccg gcgtctattt ctgtgcacgg ccccaagtcc actatgatta
caacgggttt 1860

ccttactggg gccaagggac tcccgtcact gtctctagcg gtggcggagg
gtctgggggt 1920

ggcggatccg gaggtggtgg ctctgcacaa gacatccaga tgacccagtc
tccaagcagc 1980

ctgtctgcaa gcgtggggga cagggtcacc atgacctgca gtgccagctc
aagtgtaagt 2040

tacatgaact ggtaccagca gaagccgggc aaggccccca aaagatggat
ttatgactca 2100

tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc ttcagtggca gtgggtctgg
gaccgactat 2160

accctcacaa tcagcagcct gcagcccgaa gatttcgcca cttattactg
ccagcagtgg 2220

agtcgtaacc cacccacgtt cggaggggg accaagctac aaattacatc
ctccagctaa 2280

<210> 164
<211> 739
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> TSC302 Scorpion được mô phỏng theo người (huVL-VH#2 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv,
với liên kết H106)

<400> 164

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Arg Ile
        35                  40                  45

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ile Glu Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
        115                 120                 125

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
    130                 135                 140

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val
145                 150                 155                 160

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Phe Asn Pro
                165                 170                 175

Tyr Asn Asp Tyr Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr
            180                 185                 190

Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly
    210                 215                 220
```

```
Tyr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
                245                 250                 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
            260                 265                 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
        275                 280                 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
    290                 295                 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305                 310                 315                 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Ala Tyr Ala Cys Ala Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
    370                 375                 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430
```

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Arg His Asn Asn Ser
465 470 475 480

Ser Leu Asn Thr Gly Thr Gln Met Ala Gly His Ser Gln Val Gln Leu
485 490 495

Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
500 505 510

Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser Thr Met His Trp
515 520 525

Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn
530 535 540

Pro Ser Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe
545 550 555 560

Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp
565 570 575

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Gln
580 585 590

Val His Tyr Asp Tyr Asn Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro
595 600 605

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
610 615 620

Gly Gly Gly Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
625 630 635 640

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser
645 650 655

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
660 665 670

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro
675 680 685

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile
690 695 700

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
705 710 715 720

Ser Arg Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr
725 730 735

Ser Ser Ser

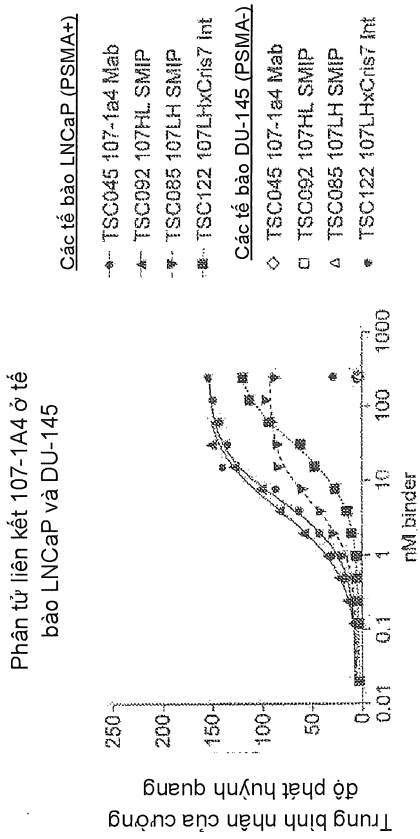
<210> 165
<211> 25
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo <220>
<223> Liên kết

<220>
<221> Lặp lại
<222> (1)..(5)
<223> n=5

<400> 165

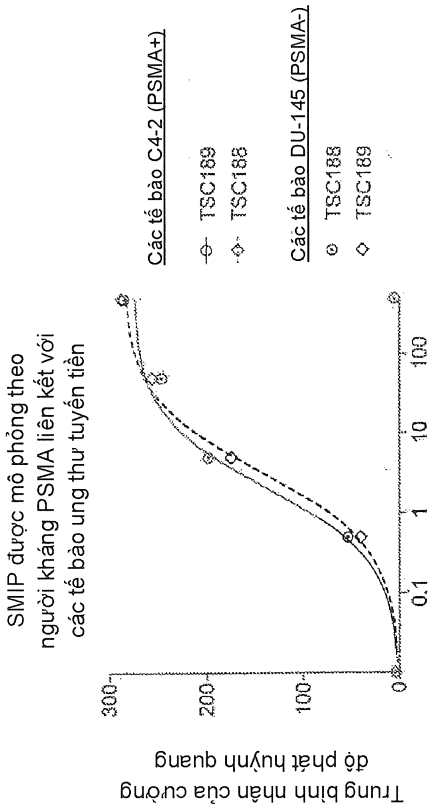
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25



Hợp chất	EC50
TSC045	5.4 +/- 0.8 nM
TSC092	4.0 +/- 0.5 nM
TSC085	4.9 +/- 0.6 nM

FIG. 1



TSC#	Phân tử	EC50 biểu thiện
188	hu1071A4 LH SMIP (VH1a-Vk1b)	3.2 +/- 0.7 nM
189	hu1071A4 LH SMIP (VH1b-Vk1b)	2.1 +/- 0.9 nM

FIG. 2A

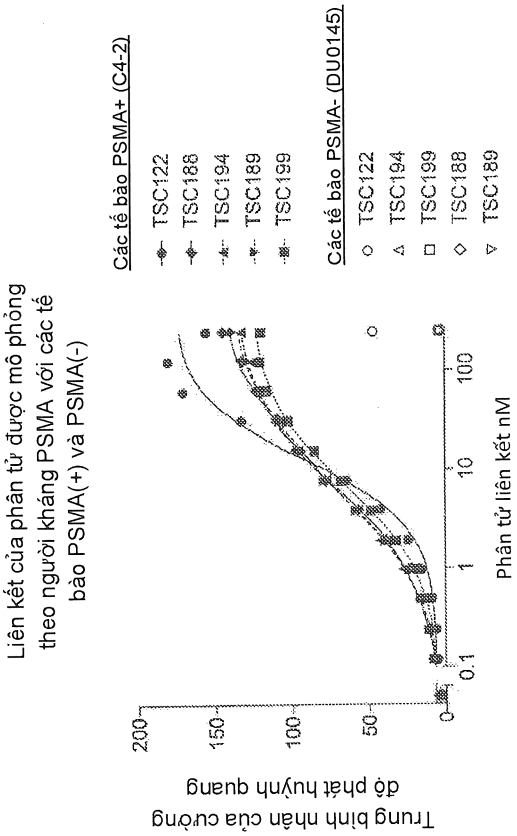

Liên kết của phân tử được mô phỏng theo người kháng PSMA với các tế bào PSMA(+) và PSMA(-)
Các tế bào PSMA+ (C4-2)
TSC122
TSC188
TSC194
TSC189
TSC199
Các tế bào PSMA- (DU0145)
TSC122
TSC194
TSC199
TSC188
TSC189
Trung bình nhân của cường độ phát huỳnh quang
200
150
100
50
0
0.1
1
10
100
Phân tử liên kết nM

FIG. 2B

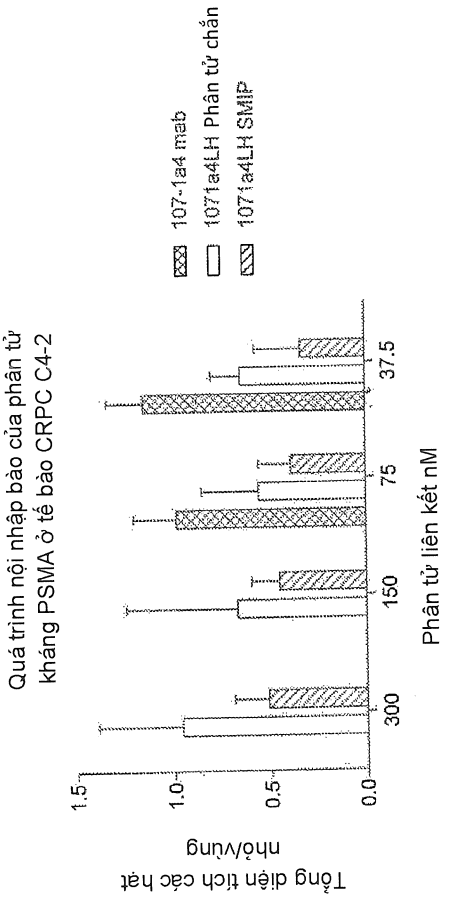

Quá trình nội nhập bào của phân tử
kháng PSMA ở tế bào CRPC C4-2
Tổng diện tích các hạt
nhỏ/vùng
1.5
1.0
0.5
0.0
300
150
75
37.5
Phân tử liên kết nM
107-1a4 mab
1071a4LH Phân tử chắn
1071a4LH SMIP

FIG. 3

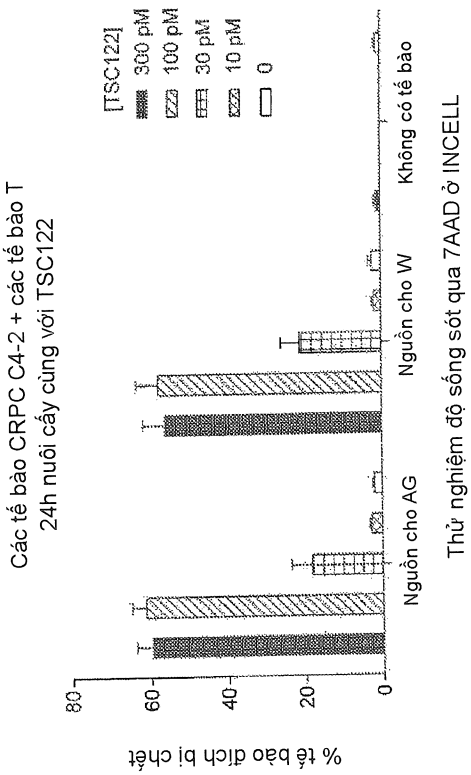
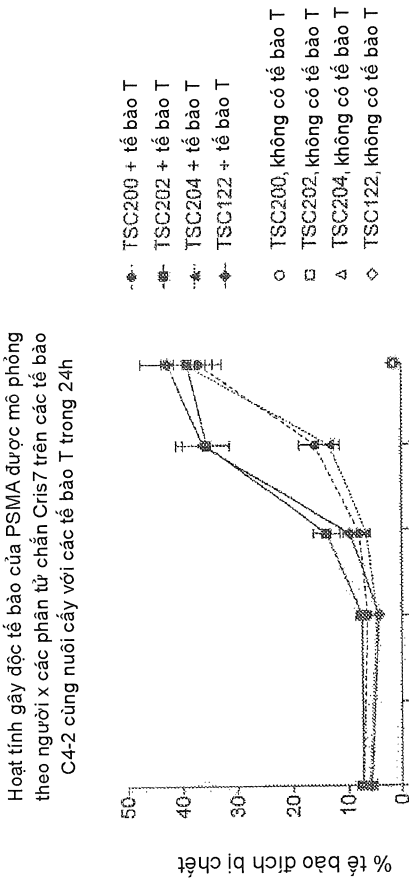

Các tế bào CRPC C4-2 + các tế bào T
24h nuôi cấy cùng với TSC122
[TSC122]
300 pM
100 pM
30 pM
10 pM
0
% tế bào đích bị chết
80
60
40
20
0
Nguồn cho AG
Nguồn cho W
Không có tế bào
Thử nghiệm độ sống sót qua 7AAD ở INCELL

FIG. 4



	Phân tử chắn pM
TSC200	Cris7(1) TSC189(2)
TSC202	Cris7(1) TSC188(2)
TSC204	TSC189(1) Cris7(2)
TSC122	1071A4 LH(1) Cris7(2) gốc không được mô phỏng theo người

FIG. 5

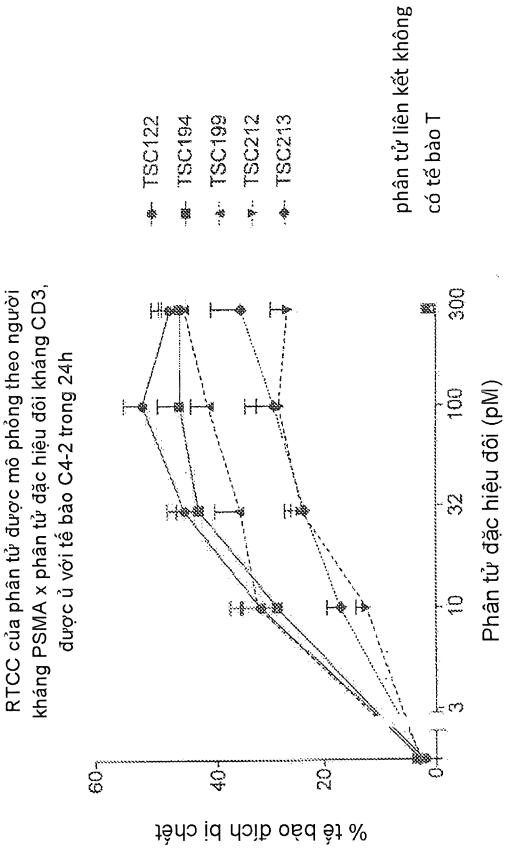

RTCC của phân tử được mô phỏng theo người
kháng PSMA x phân tử đặc hiệu đối kháng CD3,
được ủ với tế bào C4-2 trong 24h
% tế bào đích bị chết
60
40
20
0
3
10
32
100
300
Phân tử đặc hiệu đối (pM)
TSC122
TSC194
TSC199
TSC212
TSC213
phân tử liên kết không
có tế bào T

FIG. 6

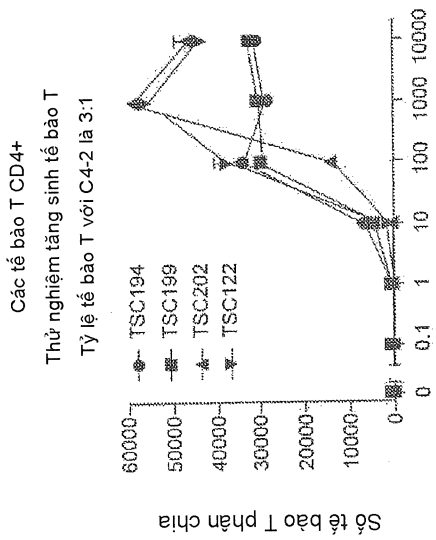

Các tế bào T CD4+
Thử nghiệm tăng sinh tế bào T
Tỷ lệ tế bào T với C4-2 là 3:1
TSC194
TSC199
TSC202
TSC122
Số tế bào T phân chia
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
0.1
1
10
100
1000
10000
Phân tử đặc hiệu đối (pM)

FIG. 7A

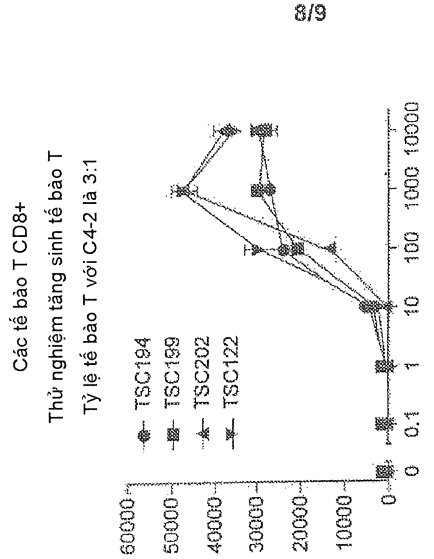

Các tế bào T CD8+
Thử nghiệm tăng sinh tế bào T
Tỷ lệ tế bào T với C4-2 là 3:1
TSC194
TSC199
TSC202
TSC122
Số tế bào T phân chia
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
0.1
1
10
100
1000
10000
Phân tử đặc hiệu đối (pM)

FIG. 7B

A. Ức chế cạnh tranh của mAb của chuột liên kết với PSMA ở tế bào C4-2

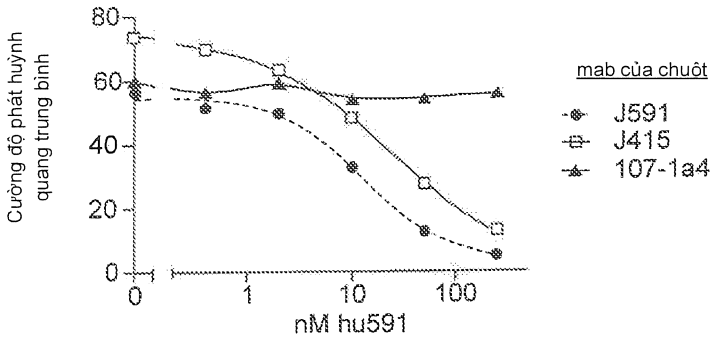


FIG. 8A

4nM kháng thể đơn dòng của chuột được trộn với 0-250nM kháng thể Hu591 được mô phỏng theo người

B. Ức chế cạnh tranh của SMIP TSC085 liên kết với PSMA ở tế bào C4-2

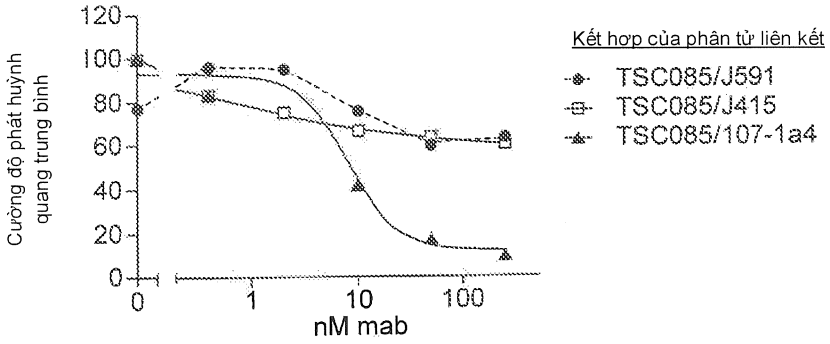


FIG. 8B

4nM SMIP thể khảm được trộn với 0-250nM kháng thể đơn dòng của chuột như được lưu ý

C. Ức chế cạnh tranh của SMIP TSC189 liên kết với PSMA ở tế bào C4-2

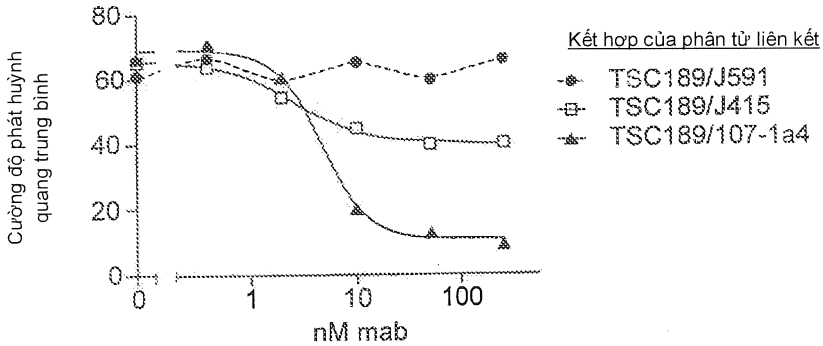


FIG. 8C

4nM SMIP của người được trộn với 0-250nM kháng thể đơn dòng của chuột như được lưu ý