(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)** (11) **1-0022577**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(51)[7] **A61K 39/395**, A61P 3/06, C07K 16/40 (13) **B**

(21) 1-2013-03886 (22) 10.05.2012
(86) PCT/US2012/037394 10.05.2012 (87) WO2012/154999 15.11.2012
(30) 61/484,610 10.05.2011 US
61/562,303 21.11.2011 US
61/595,526 06.02.2012 US
61/614,417 22.03.2012 US
61/642,363 03.05.2012 US
(45) 25.12.2019 381 (43) 25.04.2014 313
(73) Amgen Inc. (US)
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, United States of America
(72) CHAN, Joyce Chi Yee (CA), GIBBS, John P. (US), DIAS, Clapton S. (US), WASSERMAN, Scott (US), SCOTT, Robert Andrew Donald (US), CLOGSTON, Christi L. (US), OSSLUND, Timothy David (US), STEIN, Evan, A. (US)
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM DƯỢC ỔN ĐỊNH VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI ENZYM CHUYỂN HOÁ PROPROTEIN SUBTILISIN/KEXIN TYP 9 (PCSK 9)

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược ổn định và dược phẩm chứa kháng thể đơn dòng liên kết đặc hiệu với enzym chuyển hóa proprotein subtilisin/kexin typ 9 (PCSK9). Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm và dược phẩm này hữu dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol, như chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu, bằng cách sử dụng các kháng thể kháng lại PCSK9. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế chế phẩm này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược dùng để điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol, như chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu, bằng cách sử dụng các protein liên kết kháng nguyên, kể cả các kháng thể, kháng lại enzym chuyển hóa proprotein subtilisin/kexin typ 9 (PCSK9). Các phương pháp điều chế các chế phẩm này cũng được bộc lộ trong sáng chế.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

"Các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol" (mà bao gồm "các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol trong huyết thanh") bao gồm một hoặc nhiều rối loạn bất kỳ trong số các rối loạn sau đây: chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipit huyết, bệnh tim, hội chứng chuyển hóa, bệnh đái tháo đường, bệnh tim mạch vành, chứng đột quỵ, các bệnh tim mạch, bệnh Alzheimer và rối loạn mỡ máu nói chung, mà có thể được biểu hiện, ví dụ, ở hiện tượng tổng cholesterol trong huyết thanh tăng, LDL tăng, triglyxerit tăng, VLDL tăng, và/hoặc HDL thấp. Trên thực tế, hiện tượng tăng cholesterol huyết là yếu tố nguy cơ đã biết đối với bệnh tim mạch vành (CHD) ở người. Việc làm giảm lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp (low-density lipoprotein cholesterol - LDL-C) dẫn đến làm giảm nguy cơ đối với tim mạch và là mục đích chính trong liệu pháp dược đối với CHD. Statin (các chất ức chế hyđroxymetylglutaryl coenzym A [HMG CoA] ređuctaza) hiện là lựa chọn cho việc điều trị đối với chứng tăng cholesterol huyết. Tuy nhiên, các dữ liệu mới xuất hiện cho thấy rằng việc điều trị chứng tăng cholesterol huyết một cách tích cực hơn có liên quan đến nguy cơ mắc các biến cố CHD thấp hơn. Ngoài ra, một nhóm nhỏ bệnh nhân là không dung nạp đối với, hoặc không đáp ứng một cách thích đáng đối với, việc điều trị bằng statin. Do đó, các cách điều trị

mới mà có thể được áp dụng riêng rẽ hoặc kết hợp với các tác nhân hiện có để làm giảm một cách có hiệu quả hơn nữa LDL-C có thể là hữu dụng.

Đã xác định được rằng việc quay vòng thụ thể lipoprotein tỷ trọng thấp trên bề mặt tế bào gan (LDLR) đóng vai trò rất quan trọng trong việc duy trì cân bằng cholesterol trong tế bào và trong toàn cơ thể bằng cách điều chỉnh hàm lượng LDL-C trong huyết tương. Gần đây đã chỉ ra rằng enzym chuyển hóa proprotein subtilisin/kexin typ 9 (PCSK9) đóng vai trò quan trọng trong việc quay vòng và điều chỉnh LDLR. PCSK9 là một thành viên của nhóm subtilisin gồm các serin proteaza và chủ yếu biểu hiện ở gan. Sau khi tiết ra, nó gây ra sự điều biến giảm sau phiên mã của LDLR trên bề mặt tế bào gan theo cơ chế mà bao gồm liên kết trực tiếp với LDLR. Việc điều biến giảm LDLR ở gan lần lượt dẫn đến hàm lượng LDL-C tuần hoàn nhiều hơn. Do đó, PCSK9 có thể là đích cho việc ức chế theo các phép điều trị mới đối với các chứng tăng cholesterol huyết. Cơ sở chắc chắn cho hướng tiếp cận này đã sẵn có từ các nghiên cứu về các mẫu tiền lâm sàng và từ các phát hiện rằng người có đột biến mất chức năng của PCSK9 có hàm lượng cholesterol thấp hơn bình thường và nguy cơ mắc CHD giảm.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một vài khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm dược ổn định chứa ít nhất một kháng thể đơn dòng mà liên kết đặc hiệu với PCSK9, trong đó PCSK9 chứa các axit amin nêu trong SEQ ID NO 1, kháng thể đơn dòng với lượng nằm trong khoảng từ 40mg/ml đến 300mg/ml, và dung dịch đệm dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 40mM, và chất hoạt động bề mặt dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng/thể tích đến 20% trọng lượng/thể tích, và ít nhất một chất làm ổn định dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 10% trọng lượng/thể tích, trong đó chế phẩm dược ổn định này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,0. Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa chất đệm dược dụng được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, phosphat, nước muối đệm phosphat, natri axetat, natri xitrat, và dung dịch đệm Tris. Theo các phương án cụ thể, chất đệm dược dụng của chế phẩm dược ổn định nêu trên có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 10mM đến

20mM. Theo một phương án cụ thể, chất đệm dược dụng là natri axetat với lượng nằm trong khoảng từ 10mM đến 20mM. Theo một số phương án, chất hoạt động bề mặt dược dụng chiếm khoảng từ 0,004% trọng lượng/thể tích đến 0,01% trọng lượng/thể tích. Theo các phương án cụ thể, chất hoạt động bề mặt dược dụng của chế phẩm dược ổn định nêu trên là polysorbate 80 hoặc polysorbate 20. Theo các phương án khác, chất hoạt động bề mặt dược dụng là polysorbate 80 hoặc polysorbate 20 có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% trọng lượng/thể tích đến 0,01% trọng lượng/thể tích.

Theo một số phương án, chất làm ổn định dược dụng của chế phẩm dược ổn định nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm polyhyđroxy hyđrocacbon, đisacarit, rượu polyhyđric, prolin, arginin, lysin, methionin, taurin, và rượu benzylic. Theo một số phương án, chất làm ổn định dược dụng là polyhyđroxy hyđrocacbon được chọn từ nhóm bao gồm sorbital, manitol, và glyxerol. Theo một phương án cụ thể, polyhyđroxy hyđrocacbon của chế phẩm dược ổn định nêu trên là sorbital. Theo một số phương án, chất làm ổn định dược dụng là đisacarit được chọn từ nhóm bao gồm sucroza, maltoza, lactoza, fructoza và trehaloza. Theo một số phương án, chất làm ổn định đisacarit chiếm khoảng 9% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, đisacarit nêu trên là sucroza. Theo các phương án cụ thể, sucroza có mặt trong chế phẩm dược ổn định nêu trên với lượng bằng khoảng 9% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, chất làm ổn định là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm prolin, arginin, lysin, methionin, và taurin. Theo một phương án cụ thể, chất làm ổn định là prolin. Theo phương án khác nữa, prolin có mặt trong chế phẩm dược ổn định nêu trên với lượng nằm trong khoảng từ 2% trọng lượng/thể tích đến 3% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, độ pH của chế phẩm dược ổn định nêu trên nằm trong khoảng từ 5,0 đến 5,5.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất

ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:483.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng mà chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa axit amin nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:483.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng 21B12, 31H4, 8A3, 11F1, hoặc 8A1.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên có độ nhớt bằng 30cP hoặc thấp hơn ở 25°C. Theo các phương án cụ thể, chế phẩm dược ổn định nêu trên kháng thể đơn dòng có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 150mg/ml và chế phẩm dược ổn định này có độ nhớt 12cP hoặc thấp hơn ở 25°C.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên có nồng độ molal đồng thẩm áp nằm trong khoảng từ 250mOsmol/kg đến 350mOsmol/kg. Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên vẫn là ổn định trong thời gian ít nhất là 3 tháng, 6 tháng, 12 tháng hoặc 24 tháng.

Theo các phương án cụ thể, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng có vùng thay đổi mà đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà đồng nhất ít nhất là 90% so với SEQ ID NO:463. Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng có vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463 và trong đó lượng kháng thể đơn dòng là khoảng 150.

Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà đồng nhất ít nhất là 90% so với SEQ ID NO:49. Theo một số phương án, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng có vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49 và trong đó lượng kháng thể đơn dòng là khoảng 120mg/ml hoặc 140mg/ml.

Theo các phương án cụ thể, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa (a) kháng thể đơn dòng với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 200mg/ml, kháng thể đơn dòng nêu trên chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa axit amin có trình tự nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà

chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:483 và natri axetat với lượng bằng khoảng 10mM; sucroza với lượng bằng khoảng 9,0% trọng lượng/thể tích; polysorbate 20 hoặc polysorbate 80 với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% đến 0,01% trọng lượng/thể tích, và độ pH bằng khoảng 5,2.

Theo khía cạnh này, kháng thể đơn dòng có thể là 21B12, 8A3, 11F1. Theo các phương án cụ thể của khía cạnh này, kháng thể đơn dòng này là 21B12 và có mặt trong chế phẩm dược ổn định nêu trên với lượng bằng khoảng 140mg/ml. Theo các phương án khác nữa của khía cạnh này, chế phẩm dược ổn định được bảo hộ chứa polysorbate 20 với lượng bằng khoảng 0,004%. Theo các phương án cụ thể khác của khía cạnh này, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng là 8A3 với lượng bằng khoảng 150mg/ml.

Theo các phương án khác nữa của khía cạnh này, chế phẩm dược ổn định nêu trên chứa kháng thể đơn dòng là 11F1 với lượng bằng khoảng 140mg/ml, 150mg/ml, 160mg/ml, 170mg/ml, 180mg/ml, 190mg/ml, hoặc 200mg/ml. Theo các phương án cụ thể, chế phẩm dược ổn định chứa 11F1 còn chứa polysorbate 80 với lượng bằng khoảng 0,01%.

Theo một phương án khác, chế phẩm dược ổn định chứa (a) kháng thể đơn dòng với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 200mg/ml, kháng thể đơn dòng nêu trên chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:483, và natri axetat với lượng bằng

khoảng 10mM; prolin với lượng nằm trong khoảng từ 2,0% đến 3,0% trọng lượng/thể tích; polysorbate 20 hoặc polysorbate 80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích, và độ pH bằng khoảng 5,0. Theo một số phương án của khía cạnh này, chế phẩm dược ổn định chứa kháng thể đơn dòng là 21B12, 8A3 hoặc 11F1.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, chế phẩm dược ổn định chứa kháng thể đơn dòng kháng PCSK9 với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 200mg/ml, kháng thể đơn dòng nêu trên chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 577 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 576; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 577 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:576 ; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 588 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 589 hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 588 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:589; và (b) natri axetat với lượng bằng khoảng 10mM; (c) sucroza với lượng bằng khoảng 9,0% trọng lượng/thể tích; (d) polysorbate 20 hoặc polysorbate 80 với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% đến 0,01% trọng lượng/thể tích, và (e) độ pH bằng khoảng 5,2.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, chế phẩm dược ổn định chứa kháng thể đơn dòng kháng PCSK9 với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 200mg/ml, kháng thể đơn dòng nêu trên chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 577 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 576; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 577 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:576; vùng thay đổi

của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 588 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 589 hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 588 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:589; và (b) natri axetat với lượng bằng khoảng 10mM; (c) prolin với lượng nằm trong khoảng từ 2,0% đến 3,0% trọng lượng/thể tích; (d) polysorbate 20 hoặc polysorbate 80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích, và (e) độ pH bằng khoảng 5,0.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 với liều lượng nằm trong khoảng từ 10mg đến 3000mg, nhờ đó làm giảm hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh nêu trên ít nhất là khoảng 15%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân nêu trên được làm giảm ít nhất là khoảng 20%, ít nhất là khoảng 25%, ít nhất là khoảng 30%, ít nhất là khoảng 35%, ít nhất là khoảng 40%, ít nhất là khoảng 45%, ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 55%, ít nhất là khoảng 60%, ít nhất là khoảng 65%, ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, hoặc ít nhất là khoảng 90% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 2800mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 2500mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 2000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1800mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1400mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 25mg đến 1200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 700mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 45mg đến 700mg, liều lượng

nằm trong khoảng từ 45mg đến 600mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 45mg đến 450mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 70mg đến 450mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 105mg đến 420mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 120mg đến 200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 180mg, hoặc liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 170mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 700mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1200 đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1400mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1800mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 2000mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 2400mg đến 3000mg, hoặc liều lượng nằm trong khoảng từ 2800mg đến 3000mg. Theo một số phương án của khía cạnh này, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 35mg, liều lượng bằng khoảng 45mg, liều lượng bằng khoảng 70mg, liều lượng bằng khoảng 105mg, liều lượng bằng khoảng 120mg, liều lượng bằng khoảng 140mg, liều lượng bằng khoảng 150mg, liều lượng bằng khoảng 160mg, liều lượng bằng khoảng 170mg, liều lượng bằng khoảng 180mg, liều lượng bằng khoảng 190mg, liều lượng bằng khoảng 200mg, liều lượng bằng khoảng 210mg, liều lượng bằng khoảng 280mg, liều lượng bằng khoảng 360mg, liều lượng bằng khoảng 420mg, liều lượng bằng khoảng 450mg, liều lượng bằng khoảng 600mg, liều lượng bằng khoảng 700mg, liều lượng bằng khoảng 1200mg, liều lượng bằng khoảng 1400mg, liều lượng bằng khoảng 1800mg, liều lượng bằng khoảng 2000mg, liều lượng bằng khoảng 2500mg, liều lượng bằng khoảng 2800mg, hoặc liều lượng bằng khoảng 3000mg.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) mỗi tuần một lần, (2) hai tuần một lần, (3) mỗi tháng một lần, (4) hai tháng một lần, (5) ba tháng một lần, (6) sáu tháng một lần và (7) mười hai tháng một lần. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng ngoài đường tiêu hóa. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng trong tĩnh mạch. Theo một số

phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng dưới da.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:483; hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 582 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:583. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 23, và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 12, và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO:463; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:483; hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 582, và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO:583. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được chọn từ nhóm bao gồm 21B12, 31H4, 8A3, 11F1 và 8A1.

Theo một số khía cạnh, sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol ở bệnh nhân có hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 ở liều lượng nằm trong khoảng từ 10mg đến 3000mg, nhờ đó điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol ở bệnh nhân. Theo khía cạnh của phương án này, rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol được điều trị hoặc phòng ngừa là chứng tăng cholesterol huyết di truyền, kể cả chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử và chứng tăng cholesterol huyết di truyền đồng hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết không di truyền, chứng tăng lipoprotein (a), bệnh tim, hội chứng chuyển hóa, bệnh đái tháo đường, bệnh tim mạch vành, chứng đột quỵ, bệnh tim mạch, bệnh Alzheimer, bệnh động mạch ngoại biên, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu. Theo một số phương án của khía cạnh này, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân nêu trên được làm giảm ít nhất là khoảng 15%, ít nhất là khoảng 20%, ít nhất là khoảng 25%, ít nhất là khoảng 30%, ít nhất là khoảng 35%, ít nhất là khoảng 40%, ít nhất là khoảng 45%, ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 55%, ít nhất là khoảng 60%, ít nhất là khoảng 65%, ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 75%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, hoặc ít nhất là khoảng 90% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân nêu trên.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 2800mg, liều lượng nằm trong

khoảng từ 35mg đến 2500mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 2000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1800mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1400mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 25mg đến 1200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 1000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 35mg đến 700mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 45mg đến 700mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 45mg đến 600mg, khoảng từ 45mg đến 450mg, khoảng từ 70mg đến 450mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 105mg đến 420mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 120mg đến 200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 200mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 180mg, hoặc liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 170mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 700mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1200 đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1400mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 1800mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 2000mg đến 3000mg, liều lượng nằm trong khoảng từ 2400mg đến 3000mg, hoặc khoảng từ 2800mg đến 3000mg. Theo một số phương án của khía cạnh này, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 35mg, ở liều lượng bằng khoảng 45mg, ở liều lượng bằng khoảng 70mg, ở liều lượng bằng khoảng 105mg, ở liều lượng bằng khoảng 120mg, ở liều lượng bằng khoảng 140mg, ở liều lượng bằng khoảng 150mg, ở liều lượng bằng khoảng 160mg, ở liều lượng bằng khoảng 170mg, ở liều lượng bằng khoảng 180mg, ở liều lượng bằng khoảng 190mg, ở liều lượng bằng khoảng 200mg, ở liều lượng bằng khoảng 210mg, ở liều lượng bằng khoảng 280mg, ở liều lượng bằng khoảng 360mg, ở liều lượng bằng khoảng 420mg, ở liều lượng bằng khoảng 450mg, ở liều lượng bằng khoảng 600mg, ở liều lượng bằng khoảng 700mg, ở liều lượng bằng khoảng 1200mg, ở liều lượng bằng khoảng 1400mg, ở liều lượng bằng khoảng 1800mg, ở liều lượng bằng khoảng 2000mg, ở liều lượng bằng khoảng 2500mg, ở liều lượng bằng khoảng 2800mg, hoặc ở liều lượng bằng khoảng 3000mg.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1)

mỗi tuần một lần, (2) hai tuần một lần, (3) mỗi tháng một lần, (4) cách tháng, (5) ba tháng một lần, (6) sáu tháng một lần và (7) mười hai tháng một lần. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế kháng thể kháng PCSK9 được dùng ngoài đường tiêu hóa. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng dưới da.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 12 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:483; hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 582 và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:583. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 23, và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO:49; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 12, và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit

amin, SEQ ID NO:67; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 461 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:459; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463; vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 485 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:483; hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO: 582, và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin, SEQ ID NO:583. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được chọn từ nhóm bao gồm 21B12, 31H4, 8A3, 11F1 và 8A1.

Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) mỗi tuần một lần, (2) hai tuần một lần, (3) mỗi tháng một lần, (4) cách tháng, (5) ba tháng một lần, (6) sáu tháng một lần và (7) mười hai tháng một lần. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng ngoài đường tiêu hóa. Theo một số phương án của khía cạnh này của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 được dùng dưới da.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 là 21B12 và 31H4. Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49. Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49. Theo một số phương án, là kháng thể kháng PCSK9 là 21B12. Theo một phương án cụ thể, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin

đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc kháng thể là 21B12, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 21mg đến 70mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 21mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 35mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 70mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 70mg đến 280mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 70mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 105mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 120mg dưới da hai tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 140mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL

trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 210mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng khoảng 280mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 280mg đến 420mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh theo sáng chế được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 280mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 350mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 420mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày.

Theo một phương án cụ thể khác, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc là kháng thể là 21B12, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15%

đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày, được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày, cho bệnh nhân dùng với liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong

huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày.

Theo phương án cụ thể khác, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49 hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49 hoặc là kháng thể là 21B12, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 21mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 35mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 70mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 70mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 105mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 120mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14

ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 140mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 210mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 280mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 280mg đến 420mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 280mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 350mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 420mg dưới da 4 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày.

Theo một phương án cụ thể khác, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:23 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49, hoặc là kháng thể là 21B12, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm

lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày, cho bệnh nhân dùng với liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh

mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 là 8A3, 11F1 và 8A1. Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463. Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 chứa: vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463. Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 là 11F1. Theo phương án cụ thể, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463, hoặc là kháng thể là 11F1, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 45mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 3 ngày đến 10 ngày, cho bệnh nhân dùng với liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày;

được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 150mg đến 200mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 21 ngày đến 31 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 31 ngày đến 42 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 150mg đến 200mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 31 ngày đến 42 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 31 ngày đến 42 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 31 ngày đến 42 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 31 ngày đến 42 ngày;

được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 200mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 45 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 12 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 74 ngày đến 84 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 12 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 74 ngày đến 84 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 16 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 100 ngày đến 112 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 16 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 100 ngày đến 112 ngày.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463 hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463 hoặc là kháng thể là 11F1, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 45mg dưới da mỗi tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày, cho bệnh nhân dùng với liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da hai tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 150mg đến 200mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 150mg dưới da sáu

tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 40 ngày đến 41 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 150mg đến 200mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 40 ngày đến 41 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 40 ngày đến 41 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 40 ngày đến 41 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da sáu tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 40 ngày đến 41 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 140mg đến 200mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 170mg đến 180mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 150mg đến 170mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 450mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến

50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 8 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 50 ngày đến 56 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 12 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 80 ngày đến 84 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 12 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 80 ngày đến 84 ngày; với liều lượng bằng khoảng 600mg dưới da 16 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 105 ngày đến 112 ngày; với liều lượng bằng khoảng 700mg dưới da 16 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 105 ngày đến 112 ngày.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, trong đó kháng thể kháng PCSK9 chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:463 hoặc chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:465 và vùng thay đổi của chuỗi nặng mà chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:463 hoặc là kháng thể là 11F1, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân, kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của

bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch hằng tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 7 ngày đến 10 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch cách tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 10 ngày đến 14 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày, cho bệnh nhân dùng với liều lượng bằng khoảng 700mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng bằng khoảng 1200mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng cho bệnh nhân ở liều lượng cao hơn khoảng từ 1200mg đến 3000mg trong tĩnh mạch bốn tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 24 ngày đến 28 ngày; được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg trong

tĩnh mạch 24 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 150 ngày đến 168 ngày; được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg trong tĩnh mạch 24 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 160 ngày đến 168 ngày; được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg trong tĩnh mạch 52 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 15% đến 50% trong thời gian khoảng từ 350 ngày đến 365 ngày; được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg trong tĩnh mạch 52 tuần một lần, trong đó hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh của bệnh nhân được làm giảm ít nhất là khoảng từ 30% đến 50% trong thời gian khoảng từ 360 ngày đến 365 ngày.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 được dùng cho bệnh nhân trước, sau hoặc đồng thời với ít nhất một tác nhân làm giảm cholesterol khác. Các tác nhân làm giảm cholesterol bao gồm các statin, kể cả atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, lovastatin, mevastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin, simvastatin, axit nicotinic (niaxin), niaxin giải phóng chậm (SLO-NIACIN), laropiprant (CORDAPTIVE), axit fibric (LOPID (Gemfibrozil), TRICOR (fenofibrat)), tác nhân càng hóa axit mật, như cholestyramin (QUESTRAN), colesvelam (WELCHOL), COLESTID (colestipol)), chất ức chế sự hấp thụ cholesterol (ZETIA (ezetimit)), tác nhân cải biến lipit, chất chủ vận PPAR gama, chất chủ vận PPAR alpha/gama, chất ức chế squalen synthaza, chất ức chế CETP, chất trị tăng huyết áp, tác nhân trị đái tháo, bao gồm sulphonyl ure, insulin, các chất tương tự GLP-1, các chất ức chế DDPIV, các chất điều biến ApoB, các chất ức chế MTP và/hoặc các chất điều trị chứng xơ cứng động mạch tắc, oncostatin M, estrogen, berbin và các tác nhân trị liệu để điều trị rối loạn liên quan đến miễn dịch.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân. Phương pháp này bao gồm bước

cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 được bộc lộ trong bản mô tả này với liều lượng nằm trong khoảng từ 10mg đến 3000mg. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 10mg đến 70mg được dùng mỗi tuần một lần (QW). Theo một số phương án, liều lượng của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng khoảng 14mg đến 45mg được dùng hằng tuần. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 14mg đến 35mg được dùng hằng tuần. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 70mg đến 420mg được dùng 2 tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 70mg đến 350mg được dùng 2 tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 105mg đến 350mg được dùng 2 tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 140mg đến 280mg được dùng 2 tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 250mg đến 480mg được dùng 4 tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 280mg đến 420mg được dùng 4 tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 350mg đến 420mg được dùng 4 tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg được dùng mỗi tuần một lần (QW). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg được dùng mỗi tuần một lần (QW). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 2000mg đến 3000mg được dùng mỗi tuần một lần (QW). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg được dùng cách tuần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ

1000mg đến 3000mg được dùng cách tuần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 2000mg đến 3000mg được dùng cách tuần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 420mg đến 3000mg được dùng mỗi tháng một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 1000mg đến 3000mg được dùng mỗi tháng một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 2000mg đến 3000mg được dùng mỗi tháng một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được

làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg hai tuần một lần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W) (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); và (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350 bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo

một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm trị số PCSK9 ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg cách tuần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg hai tuần một lần hoặc cách tuần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg hai tuần một lần hoặc cách tuần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng

170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350 bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60% so với trị số PCSK9 trong huyết thanh trước khi dùng liều. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm tổng hàm lượng cholesterol ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg cách tuần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg cách tuần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg cách tuần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất

với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350mg bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 20% so với tổng hàm lượng trước liều của cholesterol. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 60%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hàm lượng cholesterol không có HDL ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg cách tuần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg hai tuần một lần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg cách tuần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng

150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350 bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 30% so với hàm lượng trước liều của cholesterol không có HDL. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 85%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hàm lượng ApoB ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao

gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg cách tuần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg hai tuần một lần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg cách tuần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350 bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 20% so với hàm lượng trước liều của ApoB. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 75%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hàm lượng Lipoprotein A ("Lp(a)") ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và

trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg hai tuần một lần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg hai tuần một lần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg hai tuần một lần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350 bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 10% so với hàm lượng Lp(a) trước khi dùng liều. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 15%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được

làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 65%.

Theo một số khía cạnh, sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 được bộc lộ trong bản mô tả này với liều lượng nằm trong khoảng từ 10mg đến 3000mg. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 10mg đến 70mg được dùng mỗi tuần một lần (QW). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 14mg đến 45mg được dùng một tuần một lần. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 14mg đến 35mg được dùng hai tuần một lần. Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 70mg đến 420mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 70mg đến 350mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 105mg đến 350mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 140mg đến 280mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 150mg đến 280mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 150mg đến 200mg được dùng hai tuần một lần (Q2W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 150mg đến 480mg được dùng bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 150mg đến 200mg được dùng bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 200mg đến 480mg được dùng bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể

kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 250mg đến 480mg được dùng bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 280mg đến 420mg được dùng bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 nằm trong khoảng từ 350mg đến 420mg được dùng bốn tuần một lần. Theo một số phương án, liều là khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này là khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, liều lượng này là khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25% bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol

LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%. Theo một số phương án, rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol là chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết di truyền đồng hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết không di truyền, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu.

Theo một số khía cạnh, sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị dùng liều của ít nhất một kháng thể kháng PCSK9, và trong đó liều của kháng thể kháng PCSK9 này được dùng theo lịch trình được chọn từ nhóm bao gồm: (1) ít nhất là khoảng 14mg hằng tuần (QW); (2) ít nhất với lượng bằng khoảng 35mg hằng tuần (QW); (3) ít nhất với lượng bằng khoảng 45mg hằng tuần (QW); (4) ít nhất với lượng bằng khoảng 70mg cách tuần (Q2W); (5) ít nhất với lượng bằng khoảng 105mg hai tuần một lần (Q2W); (6) ít nhất với lượng bằng khoảng 140mg cách tuần (Q2W); (7) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (8) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg cách tuần hoặc hai tuần một lần (Q2W); (9) ít nhất với lượng bằng khoảng 150mg bốn tuần một lần (Q4W); (10) ít nhất với lượng bằng khoảng 160mg bốn tuần một lần (Q4W); (11) ít nhất với lượng bằng khoảng 170mg bốn tuần một lần (Q4W); (12) ít nhất với lượng bằng khoảng 180mg bốn tuần một lần (Q4W); (13) ít nhất với lượng bằng khoảng 190mg bốn tuần một lần (Q4W); (14) ít nhất với lượng bằng khoảng 200mg bốn tuần một lần (Q4W); (15) ít nhất với lượng bằng khoảng 280mg bốn tuần một lần (Q4W); (16) ít nhất với lượng bằng khoảng 350mg bốn tuần một lần (Q4W); (17) ít nhất với lượng bằng khoảng 420mg bốn tuần một lần (Q4W); (18) ít nhất với lượng bằng khoảng 1000mg bốn tuần một lần (Q4W); (19) ít nhất với lượng bằng khoảng 2000mg bốn tuần một lần (Q4W); và (20) ít nhất với lượng bằng khoảng 3000mg bốn tuần một lần (Q4W). Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15% so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25%.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một số phương án, kháng thể kháng PCSK9 là 21B12, 26H5, 31H4, 8A3, 11F1 và/hoặc 8A1.

Theo một số phương án, rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol là chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết di truyền đồng hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết không di truyền, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu.

Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm dược chứa ít nhất một kháng thể kháng PCSK9 được chọn từ nhóm bao gồm 21B12, 26H5, 31H4, 8A3, 11F1 và 8A1.

Các phương án khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng dựa trên phần bộc lộ trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1A thể hiện trình tự axit amin của dạng thành thục của PCSK9 với miền proprotein (pro-domain) được gạch chân.

Các Fig. $1B_1$ đến $1B_4$ thể hiện các trình tự axit amin và axit nucleic của PCSK9 với miền proprotein (pro-domain) được gạch chân và trình tự tín hiệu được in đậm.

Các Fig. 2A đến 2D là bảng so sánh trình tự của các chuỗi nhẹ khác nhau của các protein liên kết kháng nguyên khác nhau. Fig. 2C tiếp tục trình tự đã bắt đầu trên Fig. 2A. Fig. 2D tiếp tục trình tự đã bắt đầu trên Fig. 2B.

Các Fig. 3A đến 3D là bảng so sánh trình tự của các chuỗi nặng khác nhau của các protein liên kết kháng nguyên khác nhau. Fig. 3C tiếp tục trình tự đã bắt đầu trên Fig. 3A. Fig. 3D tiếp tục trình tự đã bắt đầu trên Fig. 3B.

Các Fig. 3E đến 3JJ thể hiện các trình tự axit amin và axit nucleic cho các miền thay đổi theo một số phương án về các protein liên kết kháng nguyên.

Fig. 3KK thể hiện các trình tự axit amin cho các miền ổn định khác nhau.

Các Fig. 3LL đến 3BBB thể hiện các trình tự axit amin và axit nucleic cho các miền thay đổi theo một số phương án về các protein liên kết kháng nguyên.

Các Fig. 3CCC đến 3JJJ là bảng so sánh trình tự của các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ khác nhau theo một số phương án về các protein liên kết kháng nguyên.

Fig. 4A là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của người.

Fig. 4B là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của người.

Fig. 4C là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của khỉ đuôi dài (Cynomolgus).

Fig. 4D là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của khỉ đuôi dài (Cynomolgus).

Fig. 4E là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của chuột nhắt.

Fig. 4F là đường cong thể hiện mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 của chuột nhắt.

Fig. 5A thể hiện kết quả của thử nghiệm SDS PAGE liên quan đến PCSK9 và các protein liên kết kháng nguyên khác nhau thể hiện độ tinh khiết tương đối và nồng độ của các protein.

Fig. 5B và Fig. 5C thể hiện đồ thị thu được từ các thử nghiệm cân bằng dung dịch Biacore đối với 21B12.

Fig. 5D thể hiện đồ thị về động học từ thử nghiệm bẫy giữ Biacore.

Fig. 5E là biểu đồ dạng cột thể hiện kết quả liên kết đối với ba ABP.

Fig. 6A là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 31H4 IgG2 với PCSK9 trong thử nghiệm liên kết PCSK9:LDLR *in vitro*

Fig. 6B là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 31H4 IgG4 với PCSK9 trong thử nghiệm liên kết PCSK9:LDLR *in vitro*.

Fig. 6C là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 21B12 IgG2 với PCSK9 trong thử nghiệm liên kết PCSK9:LDLR *in vitro*.

Fig. 6D là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 21B12 IgG4 với PCSK9 trong thử nghiệm liên kết PCSK9:LDLR *in vitro*.

Fig. 7A là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 31H4 IgG2 trong thử nghiệm hấp thu LDL của tế bào thể hiện tác dụng của ABP để làm giảm tác dụng phong bế sự hấp thu LDL của PCSK9

Fig. 7B là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 31H4 IgG4 trong thử nghiệm hấp thu LDL của tế bào thể hiện tác dụng của ABP để làm giảm tác dụng phong bế sự hấp thu LDL của PCSK9

Fig. 7C là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 21B12 IgG2 trong thử nghiệm hấp thu LDL của tế bào thể hiện tác dụng của ABP để làm giảm tác dụng phong bế sự hấp thu LDL của PCSK9

Fig. 7D là đường cong thể hiện mức độ ức chế của protein liên kết kháng nguyên 21B12 IgG4 trong thử nghiệm hấp thu LDL của tế bào thể hiện tác dụng của ABP để làm giảm tác dụng phong bế sự hấp thu LDL của PCSK9

Fig. 8A là đồ thị thể hiện khả năng làm giảm cholesterol trong huyết thanh của ABP 31H4 ở chuột nhắt, thay đổi so với chuột nhắt đã được điều trị bằng đối chứng IgG (* $p < 0,01$).

Fig. 8B là đồ thị thể hiện khả năng làm giảm cholesterol trong huyết thanh của ABP 31H4 ở chuột nhắt, thay đổi so với thời điểm = không giờ (# p, 0,05).

Fig. 8C là đồ thị thể hiện tác dụng của ABP 31H4 đến hàm lượng cholesterol HDL ở chuột nhắt C57B1/6 (* p< 0,01).

Fig. 8D là đồ thị thể hiện tác dụng của ABP 31H4 đến hàm lượng cholesterol HDL ở chuột nhắt C57B1/6 (# p< 0,05).

Fig. 9 thể hiện phân tích thấm phương Tây về khả năng của ABP 31H4 trong việc gia tăng lượng protein LDLR trong gan sau nhiều thời điểm khác nhau.

Fig. 10A là đồ thị thể hiện khả năng của protein liên kết kháng nguyên 31H4 trong việc làm giảm tổng cholesterol trong huyết thanh ở chuột nhắt loại dại, tương đối.

Fig. 10B là đồ thị thể hiện khả năng của protein liên kết kháng nguyên 31H4 trong việc làm giảm HDL ở chuột nhắt loại dại.

Fig. 10C là đồ thị thể hiện khả năng làm giảm cholesterol trong huyết thanh của các protein liên kết kháng nguyên khác nhau 31H4 và 16F12.

Fig. 11A thể hiện quy trình tiêm chuẩn để thử nghiệm khoảng thời gian và khả năng của các protein liên kết kháng nguyên trong việc làm giảm cholesterol trong huyết thanh.

Fig. 11B là đồ thị thể hiện kết quả của quy trình chuẩn trên Fig. 11A.

Fig. 12A thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 21B12 trong các tế bào HepG2.

Fig. 12B thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 31H4 trong các tế bào HepG2.

Fig. 12C thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 25A7.1, kháng thể không trung hòa, (ngược với kháng thể trung hòa "25A7") trong các tế bào HepG2.

Fig. 12D thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 21B12 trong các tế bào HepG2 biểu hiện quá mức PCSK9.

Fig. 12E thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 31H4 trong các tế bào HepG2 biểu hiện quá mức PCSK9.

Fig. 12F thể hiện hàm lượng LDLR đáp lại sự kết hợp của statin và ABP 25A7.1, kháng thể không trung hòa, (ngược với kháng thể trung hòa "25A7") trong các tế bào HepG2 biểu hiện quá mức PCSK9.

Fig. 13A thể hiện các trình tự axit amin của chuỗi nhẹ khác nhau của các ABP khác nhau đối với PCSK9. Các dấu chấm (.) biểu thị không có axit amin.

Fig. 13B thể hiện biểu đồ phân nhánh của chuỗi nhẹ cho các ABP khác nhau đối với PCSK9.

Fig. 13C thể hiện các trình tự axit amin của chuỗi nặng khác nhau của các ABP khác nhau đối với PCSK9. Các dấu chấm (.) biểu thị không có axit amin.

Fig. 13D thể hiện sơ đồ nhánh của chuỗi nặng cho các ABP khác nhau đối với PCSK9.

Fig. 13E thể hiện sự so sánh các CDR nặng và nhẹ và tên gọi của các nhóm liên ứng suy ra.

Fig. 13F thể hiện các trình tự liên ứng cho các nhóm 1 và 2.

Fig. 13G thể hiện các trình tự liên ứng cho các nhóm 3 và 4.

Fig. 13H thể hiện các trình tự liên ứng cho các nhóm 1 và 2. Các dấu chấm (.) biểu thị các gốc giống hệt nhau.

Fig. 13I thể hiện các trình tự liên ứng cho nhóm 2. Các dấu chấm (.) biểu thị các gốc giống hệt nhau.

Fig. 13J thể hiện các trình tự liên ứng cho các nhóm 3 và 4. Các dấu chấm (.) biểu thị các gốc giống hệt nhau.

Fig. 14 là đồ thị thể hiện mức giảm hàm lượng LDL-c ở các bệnh nhân tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 15 là đồ thị thể hiện mức giảm hàm lượng LDL-c ở các bệnh nhân theo phác đồ statin liều lượng thấp, vừa phải và cao tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 16 là đồ thị thể hiện mức giảm hàm lượng ApoB ở các bệnh nhân tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 17 là biểu đồ dạng cột thể hiện mức giảm hàm lượng lipoprotein a ("Lp(a)") ở các bệnh nhân theo phác đồ statin liều lượng thấp, vừa phải và cao tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 18 là đồ thị thể hiện mức giảm nồng độ LDL-c ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 19 là đồ thị thể hiện mức giảm hàm lượng PCSK9 ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 20 là đồ thị thể hiện mức giảm tổng hàm lượng cholesterol ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 21 là đồ thị thể hiện mức giảm cholesterol không có HDL ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 22 là đồ thị thể hiện mức giảm hàm lượng ApoB ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 23 là biểu đồ dạng cột thể hiện mức giảm lipoprotein a ("Lp(a)") ở các bệnh nhân có chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử ("HeFH") tiếp nhận nhiều liều của kháng thể kháng PCSK9 (21B12).

Fig. 24A là đồ thị thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm LDL-C ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) cách tuần (Q2W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 24B là đồ thị thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm LDL-C ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) bốn tuần một lần (Q4W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 25A là biểu đồ dạng cột thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm Lp(a) ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) cách tuần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 25B là biểu đồ dạng cột thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm HDL-C ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) cách tuần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 25C là biểu đồ dạng cột thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm triglyxerit ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) cách tuần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 25D là biểu đồ dạng cột thể hiện các dữ liệu kết hợp liên quan đến mức giảm VLDL-C ở các bệnh nhân từ bốn nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25 mà các bệnh nhân này tiếp nhận các liều lượng khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) cách tuần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W) trong thời gian 12 tuần.

Fig. 26 là biểu đồ dạng cột thể hiện độ nhớt của các chế phẩm kháng thể kháng PCSK9 (21B12) chứa các chất làm ổn định/tá dược khác nhau.

Fig. 27 là đồ thị thể hiện chất làm ổn định/tá dược, prolin, có khả năng làm giảm độ nhớt của kháng thể kháng PCSK9 (21B12) các chế phẩm có nồng độ protein cao.

Fig. 28A là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH=5,2 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28B là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ

pH=5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat, 125mM arginin, và 3% sucroza, độ pH=5,0 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28C là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH=5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat, 100mM methionin, và 4% sucroza, độ pH=5,0 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28D là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH=5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat và 250mM prolin, độ pH=5,0 ở 25°C và 40°C.

Fig. 29A là biểu đồ dạng cột thể hiện số lượng các phần tử 10µm trong các chế phẩm khác nhau trong số các chế phẩm chứa kháng thể kháng PCSK9 (tức là, 21B12) trong khoảng thời gian 6 tháng.

Fig. 29B là biểu đồ dạng cột thể hiện số lượng các phần tử 25µm trong các chế phẩm khác nhau trong số các chế phẩm chứa kháng thể kháng PCSK9 (tức là, 21B12) trong khoảng thời gian 6 tháng.

Fig. 30A là biểu đồ dạng cột thể hiện số lượng các phần tử 10µm trong các chế phẩm khác nhau trong số các chế phẩm chứa kháng thể kháng PCSK9 (tức là, 11F1) trong khoảng thời gian 4 tháng.

Fig. 30B là biểu đồ dạng cột thể hiện số lượng các phần tử 25µm trong các chế phẩm khác nhau trong số các chế phẩm chứa kháng thể kháng PCSK9 (tức là, 11F1) các chế phẩm trong khoảng thời gian 4 tháng.

Fig. 31 là đồ thị minh họa tính đặc hiệu liên kết của 11F1 trong thử nghiệm cạnh tranh với PCSKP, PCSK2, PCSK1 PCSK7 và Furin với OD_{450} được thể hiện trên trục tung và nồng độ PCSK9 (ug/ml) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 32 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng đối với mức độ ức chế sự liên kết LDLR:PCSK9 D374Y bằng 11F1 trong thử nghiệm cạnh tranh với OD_{450} được thể hiện trên trục tung và Log [11F1] (pM) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 33 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng đối với mức độ ức chế sự liên kết LDLR:WT PCSK9 bằng 11F1 trong thử nghiệm cạnh tranh với OD_{450} được thể hiện trên trục tung và Log [11f1] (pM) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 34 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng đối với khả năng của 11F1 trong việc phong bế sự giảm hấp thu LDL qua trung gian PCSK9 D374Y ở người trong các tế bào HepG2 với các đơn vị huỳnh quang tương đối ($x10^4$) được thể hiện trên trục tung và Log [11F1] (nM) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 35 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều lượng đối với khả năng của 11F1 trong việc phong bế sự giảm hấp thu LDL qua trung gian WT PCSK9 ở người trong các tế bào HepG2 với đơn vị huỳnh quang tương đối ($x10^4$) được thể hiện trên trục tung và Log [11F1] (nM) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 36 là biểu đồ cột thể hiện tác dụng của 11F1 và 8A3 đến cholesterol không có HDL trong huyết thanh ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người bằng AAV với nồng độ C (cholesterol) không có HDL trong huyết thanh (mg/ml) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi tiêm (tính bằng ngày) thể hiện trên trục hoành.

Fig. 37 là biểu đồ dạng cột thể hiện tác dụng của 11F1 và 8A3 đến tổng lượng cholesterol trong huyết thanh ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người bằng AAV với tổng lượng cholesterol trong huyết thanh (mg/ml) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi tiêm (tính bằng ngày) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 38 là biểu đồ dạng cột thể hiện tác dụng của 11F1 và 8A3 đến cholesterol HDL (HDL-C) trong huyết thanh ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người bằng AAV với HDL-C (mg/ml) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi tiêm (tính bằng ngày) được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 39 là đồ thị thể hiện các profin nồng độ kháng thể IgG2, 8A3 và 11F1 ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người bằng AAV với nồng độ kháng thể trong huyết thanh (ng/ml) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi tiêm tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 40 là bảng tổng kết các thông số PK đối với IgG2, 11F1 và 8A3 ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người bởi AAV.

Fig. 41 là đồ thị thể hiện tác dụng của việc dùng dưới da một lần kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 đến nồng độ LDL trong huyết thanh (LDL-C) ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với LDL-C (mg/dl) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 42 là đồ thị thể hiện tác dụng của việc dùng dưới da một lần kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 đến tổng lượng cholesterol trong huyết thanh ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với tổng nồng độ cholesterol (mg/dl) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 43 là đồ thị thể hiện tác dụng của việc dùng dưới da một lần kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 đến cholesterol HDL trong huyết thanh ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với HDL-C (mg/dl) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 44 là đồ thị thể hiện tác dụng của việc dùng dưới da một lần kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 đến triglyxerit trong huyết thanh ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với nồng độ triglyxerit trong huyết thanh (mg/dl) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 45 là đồ thị thể hiện tác dụng của việc dùng dưới da một lần kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 đến Apolipoprotein B (ApoB) ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với nồng độ APOB (mg/dl) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 46 là đồ thị thể hiện các profin dược động học trung bình đối với kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus) với nồng độ của kháng thể (ng/ml) được thể hiện trên trục tung và khoảng thời gian sau khi dùng tính theo ngày được thể hiện trên trục hoành.

Fig. 47 là bảng tổng kết các thông số PK đối với kháng thể kháng KLH (đối chứng), 21B12, 8A3 và 11F1 ở khỉ đuôi dài (Cynomolgus).

Fig. 48A thể hiện sự so sánh các trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 8A1, 8A3 và 11F1, cũng như trình tự liên ứng thu được từ so sánh này. Các trình tự CDR được gạch chân.

Fig. 48B thể hiện sự so sánh các trình tự axit amin của chuỗi nặng của 8A1, 8A3 và 11F1, cũng như trình tự liên ứng thu được từ so sánh này. Các trình tự CDR được gạch chân.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các protein liên kết kháng nguyên (như các kháng thể và các đoạn liên kết chức năng của chúng) mà liên kết với PCSK9 được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 và ngăn không cho PCSK9 thực hiện chức năng theo nhiều cách. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên phong bế hoặc làm giảm khả năng của PCSK9 trong việc tương tác với các chất khác. Ví dụ, theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 theo cách mà ngăn ngừa hoặc làm giảm khả năng PCSK9 liên kết với LDLR. Theo các phương án khác, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 nhưng không phong bế khả năng của PCSK9 trong việc tương tác với LDLR. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên là các kháng thể đơn dòng của người.

Như các người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được, dựa vào bản mô tả này, việc làm thay đổi các tương tác giữa PCSK9 và LDLR có thể làm tăng lượng LDLR có sẵn để liên kết với LDL, mà lần lượt làm giảm lượng LDL trong huyết thanh ở đối tượng, dẫn đến sự giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh của đối tượng này. Như vậy, các protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp và chế phẩm khác nhau để điều trị cho đối tượng có hàm lượng cholesterol trong huyết thanh tăng cao, có nguy cơ có hàm lượng cholesterol trong huyết thanh tăng cao, hoặc có thể có lợi từ việc giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh của họ. Do đó, các

phương pháp và kỹ thuật khác nhau để làm giảm, duy trì, hoặc ngăn ngừa sự tăng cholesterol trong huyết thanh cũng được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên cho phép liên kết giữa PCSK9 và LDLR, nhưng protein liên kết kháng nguyên ngăn ngừa hoặc làm giảm hoạt tính bất lợi của PCSK9 đối với LDLR. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên ngăn ngừa hoặc làm giảm liên kết của PCSK9 với LDLR.

Để thuận tiện, các đoạn dưới đây phác họa một cách tổng quát các nghĩa khác nhau của các thuật ngữ được dùng trong bản mô tả này. Sau phần bàn luận này, các khía cạnh chung về các protein liên kết kháng nguyên sẽ được bàn luận, tiếp theo là các ví dụ cụ thể chứng minh các tính chất của các protein liên kết kháng nguyên theo các phương án khác nhau và cách sử dụng chúng.

Định nghĩa và các phương án

Cần phải hiểu rằng cả phần mô tả chung nêu trên và phần mô tả chi tiết dưới đây đều chỉ để làm ví dụ và mang tính minh họa và không nhằm để giới hạn phạm vi của sáng chế mà cần được xác định theo các điểm yêu cầu bảo hộ. Trong bản mô tả này, việc sử dụng danh từ số ít bao gồm các nghĩa số nhiều trừ khi được nêu rõ theo cách khác. Trong bản mô tả này, việc sử dụng thuật ngữ "hoặc" có nghĩa là "và/hoặc" trừ khi có quy định khác. Hơn thế nữa, việc sử dụng thuật ngữ "bao gồm", cũng như các dạng khác, như "gồm" và "được bao gồm", không nhằm để giới hạn. Ngoài ra, các thuật ngữ như "yếu tố" hoặc "thành phần" bao gồm cả các yếu tố và các thành phần chứa một đơn vị và các yếu tố và các thành phần mà bao gồm nhiều hơn một cấu trúc siêu phân tử trừ khi được nêu rõ theo cách khác. Ngoài ra, việc sử dụng thuật ngữ "phần" có thể bao gồm phần của gốc hoặc toàn bộ gốc.

Các đề mục của các phần được dùng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích bố cục và không nên hiểu là nhằm mục đích giới hạn đối tượng được bộc lộ. Toàn bộ các tài liệu, hoặc các phần của các tài liệu, được trích dẫn trong bản mô tả này, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các patent, các đơn yêu cầu cấp patent, các bài báo, sách, và các hiệp ước, được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn cho

mọi mục đích. Như được dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ dưới đây, trừ khi có quy định cụ thể khác, sẽ được hiểu với nghĩa như sau:

Thuật ngữ "enzym chuyển hóa proprotein subtilisin kexin typ 9" hoặc "PCSK9" được dùng để chỉ polypeptit được nêu trong SEQ ID NO: 1 và/hoặc 3 hoặc các đoạn của chúng, cũng như các polypeptit có liên quan, mà gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các biến thể alen, các biến thể ghép nối, các biến thể dẫn xuất, các biến thể thay thế, các biến thể xóa bỏ, và/hoặc các biến thể cài xen bao gồm việc bổ sung methionin ở đầu tận cùng N, polypeptit dung hợp, và các thể tương đồng giữa các loài. Theo các phương án nhất định, polypeptit PCSK9 bao gồm các gốc tận cùng, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, các gốc của đoạn dẫn đầu, các gốc hướng đích, các gốc methionin ở đầu tận cùng amino, các gốc lysin, các gốc đánh dấu và/hoặc các gốc của protein dung hợp. "PCSK9" còn được gọi là FH3, NARC1, HCHOLA3, enzym chuyển hóa proprotein subtilisin/kexin typ 9, và enzym chuyển hóa 1 điều tiết quá trình làm chết tế bào theo chương trình ở hệ thần kinh. Gen PCSK9 ghi mã protein chuyển hóa proprotein mà thuộc họ phụ proteinaza K của họ subtilaza tiết. Thuật ngữ "PCSK9" biểu thị cả proprotein và sản phẩm được tạo ra sau sự tự xúc tác của proprotein này. Khi chỉ viện dẫn đến sản phẩm tự xúc tác (như đối với protein liên kết kháng nguyên mà liên kết một cách chọn lọc với PCSK9 đã được phân cắt), thì protein có thể được gọi là PCSK9 "thành thục", "đã được phân cắt", "đã được xử lý" hoặc "có hoạt tính". Khi chỉ viện dẫn đến dạng không có hoạt tính, thì protein có thể được gọi là dạng "không có hoạt tính", "dạng ban đầu", hoặc dạng "chưa được xử lý" của PCSK9. Thuật ngữ PCSK9 được dùng trong bản mô tả này còn bao gồm các alen có trong tự nhiên, như các đột biến D374Y, S127R và F216L. Thuật ngữ PCSK9 còn bao hàm cả các phân tử PCSK9 kết hợp các cải biến sau dịch mã của trình tự axit amin của PCSK9, như các trình tự PCSK9 đã được glycosyl hóa, được PEGyl hóa, các trình tự PCSK9 mà từ đó phân cắt ra trình tự tín hiệu của nó, trình tự PCSK9 mà từ đó phân cắt ra miền proprotein (pro domain) từ miền xúc tác mà không được tách ra khỏi miền xúc tác (ví dụ, Fig. 1A và Fig. 1B).

Thuật ngữ "hoạt tính PCSK9" bao gồm tác dụng sinh học bất kỳ của PCSK9. Theo các phương án nhất định, hoạt tính PCSK9 bao gồm khả năng của PCSK9 trong việc tương tác hoặc liên kết với cơ chất hoặc thụ thể. Theo một số phương án, hoạt tính PCSK9 được thể hiện ở khả năng của PCSK9 trong việc liên kết với thụ thể LDL (LDLR). Theo một số phương án, PCSK9 liên kết với và xúc tác phản ứng có sự tham gia của LDLR. Theo một số phương án, hoạt tính PCSK9 bao gồm khả năng của PCSK9 trong việc làm thay đổi (ví dụ, làm giảm) mức độ sẵn có của LDLR. Theo một số phương án, hoạt tính PCSK9 bao gồm khả năng của PCSK9 trong việc làm tăng lượng LDL ở đối tượng. Theo một số phương án, hoạt tính PCSK9 bao gồm khả năng của PCSK9 trong việc làm giảm lượng LDLR mà là sẵn có để liên kết với LDL. Theo một số phương án, "hoạt tính PCSK9" bao gồm hoạt tính sinh học bất kỳ tạo ra từ sự phát tín hiệu của PCSK9. Các hoạt tính làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hoạt tính của PCSK9 liên kết với LDLR, hoạt tính enzym của PCSK9 mà phân cắt LDLR hoặc các protein khác, hoạt tính của PCSK9 liên kết với các protein khác với LDLR mà hỗ trợ cho hoạt động của PCSK9, khả năng của PCSK9 làm thay đổi mức độ tiết APOB (Sun X-M et al, "*Evidence for effect of mutant PCSK9 on apoliprotein B secretion as the cause unusually severe dominant hypercholesterolemia, Human Molecular Genetics* 14: 1161 đến 1169, 2005 và Ouguerram K et al, "*Apolipoprotein B100 metabolism in autosomal-dominant hypercholesterolemia related to mutations in PCSK9, Arterioscler thromb Vasc Biol.* 24: 1448-1453, 2004), vai trò của PCSK9 trong việc tái tạo gan và biệt hóa tế bào thần kinh (Seidah NG et al, "*The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation" PNAS* 100: 928-933, 2003), và vai trò của PCSK9 trong chuyển hóa glucoza ở gan (Costet et al., "*Hepatic PCSK9 expression is regulated by nutritional status via insulin and sterol regulatory element-binding protein 1c*" *J. Biol. Chem.* 281(10):6211 đến 18, 2006).

Thuật ngữ "chứng tăng cholesterol huyết" được dùng trong bản mô tả này để chỉ tình trạng bệnh lý, trong đó hàm lượng cholesterol tăng quá mức mong muốn. Theo một số phương án, thuật ngữ này biểu thị rằng hàm lượng cholesterol

trong huyết thanh tăng cao. Theo một số phương án, mức mong muốn có tính đến "các yếu tố nguy cơ" khác nhau mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết (và được bộc lộ hoặc viện dẫn đến trong bản mô tả này).

Các thuật ngữ "polynucleotit" hoặc "axit nucleic" bao gồm cả các polyme nucleotit sợi đơn và sợi đôi. Các nucleotit chứa polynucleotit có thể là ribonucleotit hoặc đeoxyribonucleotit hoặc dạng cải biến của một trong hai loại nucleotit này. Các cải biến này bao gồm các cải biến bazơ như các chất dẫn xuất bromouriđin và inosin, các cải biến riboza như 2',3'-điđeoxyriboza, và các cải biến liên kết giữa các nucleotit như phosphorothioat, phosphorođithioat, phosphoroselenoat, phosphorođiselenoat, phosphoroanilothioat, phoshoraniladat và phosphoroamiđat.

Thuật ngữ "oligonucleotit" có nghĩa là polynucleotit chứa 200 nucleotit hoặc ít hơn. Theo một số phương án, các oligonucleotit có chiều dài từ 10 đến 60 bazơ. Theo các phương án khác, các oligonucleotit có chiều dài 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc từ 20 đến 40 nucleotit. Các oligonucleotit có thể là sợi đơn hoặc sợi đôi, ví dụ, để dùng trong việc cấu thành gen đột biến. Các oligonucleotit có thể là oligonucleotit có nghĩa hoặc oligonucleotit đối nghĩa. Oligonucleotit có thể bao gồm nhãn ghi dấu, bao gồm nhãn ghi dấu đồng vị phóng xạ, nhãn ghi dấu huỳnh quang, hapten hoặc nhãn ghi dấu kháng nguyên, dùng cho các thử nghiệm dò. Các oligonucleotit có thể được dùng, ví dụ, làm đoạn mồi PCR, đoạn mồi tách dòng hoặc mẫu dò lai.

Thuật ngữ "phân tử axit nucleic đã được phân lập" có nghĩa là ADN hoặc ARN của hệ gen, ARN thông tin, ADN bổ trợ, hoặc tổng hợp hoặc một vài tổ hợp của chúng mà không có liên quan đến toàn bộ hoặc một phần polynucleotit mà trong đó polynucleotit đã được phân lập được tìm thấy trong tự nhiên, hoặc được liên kết với polynucleotit mà không liên kết trong tự nhiên. Đối với các mục đích nêu trong bản mô tả này, cần phải hiểu rằng "phân tử axit nucleic chứa" trình tự nucleotit cụ thể không bao gồm các nhiễm sắc thể nguyên vẹn. Các phân tử axit nucleic đã được phân lập "chứa" các trình tự axit nucleic quy định có thể bao gồm, ngoài trình tự quy định, các trình tự mã hóa cho đến mười hoặc thậm chí đến hai mươi protein khác hoặc các phần của chúng, hoặc có thể bao gồm các trình tự điều

biến được liên kết theo cách có điều khiển mà chúng kiểm soát sự biểu hiện của vùng mã hóa của các trình tự axit nucleic được nhắc đến, và/hoặc có thể bao gồm các trình tự của vật truyền.

Trừ khi có quy định cụ thể khác, đầu tận cùng bên trái của trình tự polynucleotit sợi đơn bất kỳ bộc lộ trong bản mô tả này là đầu tận cùng 5'; hướng bên trái của các trình tự polynucleotit sợi đôi được gọi là hướng 5'. Hướng bổ sung từ 5' đến 3' của các sản phẩm phiên mã ARN mới sinh được gọi là hướng phiên mã; các vùng trình tự trên sợi ADN có cùng trình tự là sản phẩm phiên mã ARN mà là đầu 5' so với đầu tận cùng 5' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự ngược"; các vùng trình tự trên sợi ADN có cùng trình tự là sản phẩm phiên mã ARN mà là đầu 3' so với đầu tận cùng 3' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự xuôi".

Thuật ngữ "trình tự kiểm soát" được dùng để chỉ trình tự polynucleotit mà có thể tác dụng đến sự biểu hiện và xử lý các trình tự mã hóa mà chúng được nối vào. Bản chất của các trình tự kiểm soát này có thể phụ thuộc vào sinh vật chủ. Theo các phương án cụ thể, các trình tự kiểm soát cho các sinh vật không có nhân điển hình có thể bao gồm gen khởi đầu, vị trí liên kết ribosom, và trình tự kết thúc phiên mã. Ví dụ, các trình tự kiểm soát cho các sinh vật nhân chuẩn có thể bao gồm các gen khởi đầu chứa một hoặc nhiều vị trí nhận diện cho các yếu tố phiên mã, trình tự tăng cường phiên mã, và trình tự kết thúc phiên mã. "Các trình tự kiểm soát" có thể bao gồm các đoạn dẫn đầu đầu và/hoặc các trình tự cặp dung hợp.

Thuật ngữ "vật truyền" có nghĩa là phân tử hoặc thực thể (ví dụ, axit nucleic, plasmit, thể thực khuẩn hoặc virut) bất kỳ được dùng để chuyển thông tin mã hóa protein vào tế bào chủ.

Thuật ngữ "vật truyền biểu hiện" hoặc "cấu trúc biểu hiện" dùng để chỉ vật truyền mà là thích hợp để biến nạp tế bào chủ và chứa các trình tự axit nucleic mà sự biểu hiện có định hướng và/hoặc kiểm soát (kết hợp với tế bào chủ) của một hoặc nhiều vùng mã hóa dị tương đồng được liên kết theo cách có điều khiển vào đó. Cấu trúc biểu hiện có thể gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các trình tự mà tác

động hoặc kiểm soát sự phiên mã, dịch mã, và, nếu có các intron, tác động đến sự tách ARN của vùng mã hóa được liên kết theo cách có điều khiển vào đó.

Thuật ngữ "liên kết theo cách có điều khiển" được dùng trong bản mô tả này có nghĩa là các thành phần mà áp dụng thuật ngữ có mối liên hệ cho phép chúng thực hiện các chức năng vốn có trong các điều kiện thích hợp. Ví dụ, trình tự kiểm soát trong vật truyền mà "được liên kết theo cách có điều khiển" với trình tự mã hóa protein được nối vào đó sao cho sự biểu hiện của trình tự mã hóa protein đạt được trong các điều kiện tương thích với hoạt tính phiên mã của các trình tự kiểm soát.

Thuật ngữ "tế bào chủ" có nghĩa là tế bào mà đã được biến nạp, hoặc có khả năng được biến nạp, với trình tự axit nucleic và bằng cách đó biểu hiện gen quan tâm. Thuật ngữ này bao gồm cả thế hệ con của tế bào gốc, cho dù thế hệ con này đồng nhất về hình thái hoặc cấu trúc di truyền với tế bào gốc ban đầu, miễn là vẫn có gen quan tâm.

Thuật ngữ "chuyển nhiễm" có nghĩa là sự hấp thu ADN lạ hoặc ADN ngoại sinh ở tế bào, và tế bào đã "được chuyển nhiễm" khi ADN ngoại sinh được đưa vào trong màng tế bào. Nhiều kỹ thuật chuyển nhiễm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được bộc lộ trong bản mô tả. Ví dụ, xem: Graham *et al.*, 1973, *Virology* 52:456; Sambrook *et al.*, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, *supra*; Davis *et al.*, 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu *et al.*, 1981, *Gene* 13:197. Các kỹ thuật này có thể được sử dụng để đưa một hoặc nhiều gốc ADN ngoại sinh vào tế bào chủ thích hợp.

Thuật ngữ "biến nạp" dùng để chỉ sự thay đổi về đặc tính di truyền của tế bào, và tế bào đã được biến nạp khi nó được cải biến để chứa ADN hoặc ARN mới. Ví dụ, tế bào được biến nạp khi nó được cải biến về mặt di truyền so với trạng thái tự nhiên của nó bằng cách đưa vật liệu di truyền mới thông qua kỹ thuật chuyển nhiễm, tải nạp, hoặc các kỹ thuật khác. Sau khi chuyển nhiễm hoặc tải nạp, ADN biến nạp có thể tái tổ hợp với ADN của tế bào bằng cách hợp nhất vào nhiễm sắc thể của tế bào, hoặc có thể được duy trì một cách tạm thời dưới dạng một yếu tố thể bổ sung mà không bị lặp lại, hoặc có thể sao chép một cách độc lập dưới

dạng một plasmit. Tế bào được xem là đã "được chuyển nhiễm một cách ổn định" khi ADN biến nạp được sao chép bằng sự phân chia tế bào.

Các thuật ngữ "polypeptit" hoặc "protein" có nghĩa là đại phân tử có trình tự axit amin của protein tự nhiên, tức là protein được tạo ra bằng tế bào có trong tự nhiên và không tái tổ hợp; hoặc nó được tạo ra bằng tế bào đã được xử lý về mặt di truyền hoặc tái tổ hợp, và bao gồm các phân tử có trình tự axit amin của protein tự nhiên, hoặc các phân tử có phần xóa bỏ khỏi, phần bổ sung vào, và/hoặc phần thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự tự nhiên. Thuật ngữ này còn bao gồm các polyme axit amin, trong đó một hoặc nhiều axit amin là các chất tương tự về mặt hóa học của axit amin và polyme xuất hiện trong tự nhiên tương ứng. Các thuật ngữ "polypeptit" và "protein" cụ thể bao gồm các protein, các kháng thể, hoặc các trình tự liên kết kháng nguyên PCSK9 mà có phần xóa bỏ ra khỏi, phần bổ sung vào, và/hoặc phần thay thế cho một hoặc nhiều axit amin của protein liên kết kháng nguyên. Thuật ngữ "đoạn polypeptit" được dùng để chỉ polypeptit có phần xóa bỏ ở đầu tận cùng amino, phần xóa bỏ ở đầu tận cùng carboxyl, và/hoặc phần xóa bỏ nội phân tử so với protein tự nhiên có chiều dài đầy đủ. Các đoạn như vậy còn có thể chứa các axit amin được cải biến so với protein tự nhiên. Theo các phương án nhất định, các đoạn này có chiều dài nằm trong khoảng từ năm đến 500 axit amin. Ví dụ, các đoạn có thể có chiều dài ít nhất là 5, 6, 8, 10, 14, 20, 50, 70, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400, hoặc 450 axit amin. Các đoạn polypeptit hữu dụng bao gồm các đoạn có chức năng miễn dịch của kháng thể, kể cả các miền liên kết. Trong trường hợp kháng thể liên kết PCSK9, các đoạn hữu dụng gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vùng CDR, miền thay đổi của chuỗi nặng/chuỗi nhẹ, một phần của chuỗi kháng thể hoặc chỉ vùng thay đổi của nó bao gồm hai CDR, và các đoạn tương tự.

Thuật ngữ "protein đã được phân lập" được dùng để chỉ protein của đối tượng (1) không có ít nhất một số protein khác mà thường được tìm thấy, (2) về cơ bản không có các protein khác từ cùng nguồn, ví dụ, từ cùng loài, (3) được biểu hiện bởi tế bào từ các loài khác nhau, (4) đã được tách ra khỏi ít nhất là khoảng 50 phần trăm polynucleotit, lipit, hyđrat cacbon, hoặc các vật liệu khác mà thường

được kết hợp trong tự nhiên, (5) được kết hợp theo cách có điều khiển (bằng sự tương tác cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) với polypeptit mà nó không được kết hợp trong tự nhiên, hoặc (6) không xuất hiện trong tự nhiên. Thông thường, "protein đã được phân lập" cấu thành ít nhất là khoảng 5%, ít nhất là khoảng 10%, ít nhất là khoảng 25%, hoặc ít nhất là khoảng 50% mẫu nhất định. ADN hệ gen, ADN bổ trợ, ARN thông tin hoặc ARN khác, có nguồn gốc tổng hợp, hoặc tổ hợp bất kỳ mà có thể ghi hóa protein đã được phân lập đó. Tốt hơn là, protein đã được phân lập này về cơ bản không chứa các protein hoặc polypeptit hoặc các chất tạp nhiễm khác mà được tìm thấy trong môi trường tự nhiên của nó mà sẽ cản trở ứng dụng điều trị bệnh, chẩn đoán bệnh, phòng ngừa bệnh, nghiên cứu hoặc ứng dụng khác của nó.

Thuật ngữ "axit amin" bao gồm nghĩa thông thường của nó trong lĩnh vực kỹ thuật này.

"Biến thể" của polypeptit (ví dụ, protein liên kết kháng nguyên, hoặc kháng thể) chứa trình tự axit amin, trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được cài xen vào, được xóa bỏ khỏi và/hoặc được thay thế vào trình tự axit amin so với một trình tự polypeptit khác. Các biến thể bao gồm cả các protein dung hợp.

Thuật ngữ "độ đồng nhất" dùng để chỉ mối liên hệ giữa các trình tự của hai hoặc nhiều phân tử polypeptit hoặc hai hoặc nhiều phân tử axit nucleic, như được xác định bằng cách sắp hàng và so sánh các trình tự. "Độ đồng nhất theo phần trăm" có nghĩa là phần trăm của các gốc giống hệt nhau giữa các axit amin hoặc nucleotit trong các phân tử được so sánh và được tính trên cơ sở kích thước của phân tử nhỏ nhất trong số các phân tử được so sánh. Để thực hiện các tính toán này, tốt hơn nếu khoảng trống trong các hàng sắp xếp (nếu có) được đề cập đến theo mô hình toán học hoặc phần mềm máy tính (tức là "thuật toán") cụ thể. Các phương pháp mà có thể được sử dụng để tính độ đồng nhất của các axit nucleic hoặc polypeptit được sắp hàng bao gồm các phương pháp đã được bộc lộ trong: *Computational Molecular Biology*, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; *Biocomputing Informatics and Genome Projects*, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; *Computer Analysis of Sequence Data*, Part

I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, *Sequence Analysis in Molecular Biology*, New York: Academic Press; *Sequence Analysis Primer*, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; và Carillo *et al.*, 1988, *SIAM J. Applied Math.* 48:1073.

Trong việc tính độ đồng nhất theo phần trăm, các trình tự được so sánh thường được sắp hàng theo cách tạo ra sự bắt cặp cao nhất giữa các trình tự. Một ví dụ về phần mềm máy tính mà có thể được sử dụng để xác định độ đồng nhất theo phần trăm là gói phần mềm GCG, mà bao gồm GAP (Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI). Thuật toán máy tính GAP được dùng để sắp hàng trình tự của hai polypeptit hoặc polynucleotit mà đối với chúng độ đồng nhất trình tự theo phần trăm cần được xác định. Các trình tự được sắp hàng để bắt cặp tối ưu các axit amin hoặc nucleotit tương ứng của chúng ("khẩu độ bắt cặp", như được xác định theo thuật toán). Điểm phạt mở khoảng trống (mà được tính bằng 3 lần đường chéo trung bình, trong đó "đường chéo trung bình" là trung bình của đường chéo của ma trận so sánh được sử dụng; "đường chéo" là điểm hoặc số được quy cho mỗi lần bắt cặp axit amin tuyệt đối theo ma trận so sánh cụ thể) và điểm phạt mở rộng khoảng trống (mà thường bằng 1/10 lần điểm phạt mở khoảng trống), cũng như ma trận so sánh như PAM 250 hoặc BLOSum 62 được sử dụng cùng với thuật toán. Theo các phương án nhất định, ma trận so sánh chuẩn (xem, Dayhoff *et al.*, 1978, *Atlas of Protein Sequence and Structure* 5:345-352 đối với ma trận so sánh PAM 250; Henikoff *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:10915-10919 đối với ma trận so sánh BLOSum 62) cũng được sử dụng bởi thuật toán.

Các ví dụ về các thông số mà có thể được dùng để xác định độ đồng nhất theo phần trăm đối với các trình tự polypeptit hoặc nucleotit bằng cách sử dụng chương trình GAP là như sau:

- Thuật toán: Needleman *et al.*, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443-453
- Ma trận so sánh: BLOSum 62 từ Henikoff *et al.*, 1992, *nêu trên*

- Điểm phạt khoảng trống: 12 (nhưng không có điểm phạt đối với các khoảng trống cuối cùng)
- Điểm phạt chiều dài khoảng trống: 4
- Ngưỡng đồng dạng: 0

Các sơ đồ sắp hàng trình tự nhất định để sắp hàng hai trình tự axit amin có thể chỉ làm bắt cặp một vùng ngắn của hai trình tự này, và vùng đã được sắp hàng nhỏ này có thể có độ tương tự về trình tự rất cao mặc dù không có mối liên hệ đáng kể giữa hai trình tự có độ dài đầy đủ này. Do đó, phương pháp sắp hàng trình tự được chọn (chương tình GAP) có thể được điều chỉnh nếu muốn để sắp hàng trình tự mà kéo dài ít nhất là 50 axit amin liền kề của polypeptit đích hoặc số lượng khác.

Như được dùng trong bản mô tả này, hai mươi axit amin thông thường (ví dụ, các axit amin có trong tự nhiên) và các chữ viết tắt của chúng tuân theo cách dùng thông thường. Xem *Immunology--A Synthesis* (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., *Sinauer Associates*, Sunderland, Mass. (1991)), mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích. Các chất đồng phân lập thể (ví dụ, các D-axit amin) của hai mươi axit amin thông thường, các axit amin không xuất hiện trong tự nhiên như axit amin được thế hai lần tại vị trí α,α, N-alkyl axit amin, axit lactic, và các axit amin không thông thường khác cũng có thể là các thành phần thích hợp đối với các polypeptit theo sáng chế. Các ví dụ về các axit amin không thông thường bao gồm: 4-hyđroxyprolin, γ-carboxyglutamat, ε-N,N,N-trimetyllysin, ε-N-axetyllysin, O-phosphoserin, N-axetylserin, N-formylmethionin, 3-metylhistiđin, 5-hyđroxylysin, σ-N-metylarginin, và các axit amin và các axit imino tương tự khác (ví dụ, 4-hyđroxyprolin). Trong ký hiệu polypeptit được dùng trong bản mô tả này, hướng bên trái là hướng đầu tận cùng amin và hướng bên phải là hướng đầu tận cùng carboxy, theo cách dùng và quy ước chuẩn.

Tương tự, trừ khi có quy định cụ thể khác, đầu tận cùng bên trái của các trình tự polynucleotit sợi đơn là đầu tận cùng 5'; hướng bên trái của các trình tự polynucleotit sợi đôi được gọi là hướng 5'. Hướng bổ sung từ 5' đến 3' của sản phẩm phiên mã ARN mới sinh được gọi là hướng phiên mã; các vùng trình tự trên

sợi ADN có cùng trình tự với ARN và là đầu 5' so với đầu tận cùng 5' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự ngược"; các vùng trình tự trên sợi ADN có cùng trình tự như ARN và là đầu 3' so với đầu tận cùng 3' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự xuôi."

Các gốc thay thế axit amin bảo toàn có thể bao gồm các gốc axit amin không có trong tự nhiên, mà thường được kết hợp vào theo cách tổng hợp peptit theo phương pháp hóa học hơn là theo cách tổng hợp trong hệ sinh học. Chúng bao gồm các giả peptit và dạng đảo ngược hoặc dạng nghịch chuyển khác của các gốc axit amin.

Các gốc có trong tự nhiên có thể chia thành các nhóm trên cơ sở các tính chất mạch bên chung:

1) các gốc kỵ nước: norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

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

3) các gốc có tính axit: Asp, Glu;

4) các gốc có tính kiềm: His, Lys, Arg;

5) các gốc mà có ảnh hưởng đến sự định hướng của chuỗi: Gly, Pro; và

6) các gốc thơm: Trp, Tyr, Phe.

Ví dụ, các thay thế không bảo toàn có thể bao gồm sự trao đổi một thành viên của một nhóm trong số các nhóm này cho thành viên của một nhóm khác. Gốc được thay thế này có thể được đưa vào, ví dụ, các vùng của kháng thể người mà tương đồng với các kháng thể không phải của người, hoặc vào các vùng không tương đồng của phân tử.

Khi thực hiện các thay đổi đối với protein liên kết kháng nguyên hoặc protein PCSK9, theo một số khía cạnh, chỉ số chữa bệnh bằng nước của các axit amin có thể được xem xét. Mỗi axit amin được chỉ định một chỉ số chữa bệnh bằng nước trên cơ sở tính kỵ nước và tính chất tích điện của nó. Cụ thể là: isoleuxin (+4,5); valin (+4,2); leuxin (+3,8); phenylalanin (+2,8); xystein/xystin (+2,5); methionin (+1,9); alanin (+1,8); glyxin (-0,4); threonin (-0,7); serin (-0,8);

tryptophan (-0,9); tyrosin (-1,3); prolin (-1,6); histiđin (-3,2); glutamat (-3,5); glutamin (-3,5); aspartat (-3,5); asparagin (-3,5); lysin (-3,9); và arginin (-4,5).

Tầm quan trọng của chỉ số chữa bệnh bằng nước của axit amin đối với chức năng sinh học tương tác trên protein là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Kyte *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 157:105-131 (1982). Đã biết rằng một số axit amin có thể được thay thế cho các axit amin khác có chỉ số hoặc điểm chữa bệnh bằng nước tương tự và vẫn duy trì hoạt tính sinh học tương tự. Theo các phương án nhất định, các thay đổi dựa trên chỉ số chữa bệnh bằng nước bao hàm cả việc thay thế các axit amin mà có chỉ số chữa bệnh bằng nước nằm trong khoảng ±2. Theo các phương án nhất định, cả các axit amin có chỉ số chữa bệnh bằng nước nằm trong khoảng ±1 cũng được bao gồm, và theo các phương án nhất định, cả các axit amin có chỉ số chữa bệnh bằng nước nằm trong khoảng ±0,5 cũng được bao gồm.

Trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết rằng việc thay thế các axit amin tương tự có thể được thực hiện một cách có hiệu quả trên cơ sở tính ưa nước, đặc biệt là nếu protein hoặc peptit có chức năng sinh học được tạo ra bằng cách đó được nhằm để sử dụng trong các phương án miễn dịch học, như trong trường hợp này. Theo các phương án nhất định, tính ưa nước trung bình cục bộ cao nhất của protein, như bị chi phối bởi tính ưa nước của axit amin liền kề nó, tương quan với tính sinh miễn dịch và tính kháng nguyên của nó, tức là với tính chất sinh học của protein.

Các trị số ưa nước dưới đây đã được chỉ định cho các gốc axit amin này: arginin (+3,0); lysin (+3,0); aspartat (+3,0 ± 1); glutamat (+3,0 ± 1); serin (+0,3); asparagin (+0,2); glutamin (+0,2); glyxin (0); threonin (-0,4); prolin (-0,5 ± 1); alanin (-0,5); histiđin (-0,5); xystein (-1,0); methionin (-1,3); valin (-1,5); leuxin (-1,8); isoleuxin (-1,8); tyrosin (-2,3); phenylalanin (-2,5) và tryptophan (-3,4). Theo các phương án nhất định, các thay đổi dựa trên trị số ưa nước tương tự bao gồm việc thay thế các axit amin mà trị số ưa nước của chúng nằm trong khoảng ±2, theo các phương án nhất định, bao gồm cả việc thay thế các axit amin mà trị số ưa nước của chúng nằm trong khoảng ±1, và theo các phương án nhất định, bao gồm việc thay thế các axit amin mà trị số ưa nước của chúng nằm trong khoảng ±0,5. Còn có

thể xác định các biểu vị từ các trình tự axit amin bậc nhất trên cơ sở tính ưa nước. Các vùng này còn được gọi là "các vùng nhân biểu vị".

Các gốc thay thế axit amin được đưa ra làm ví dụ được thể hiện trong Bảng 1.

BẢNG 1

Các gốc thay thế axit amin

Gốc ban đầu	Các gốc thay thế được đưa ra làm ví dụ	Các gốc thay thế được ưu tiên
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleuxin	Leu
Leu	Norleuxin, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, axit 1,4 điamino-butyric, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleuxin	Leu

Thuật ngữ "chất dẫn xuất" được dùng để chỉ phân tử mà bao gồm cải biến về mặt hóa học khác với cải biến cài xen, xóa bỏ, hoặc thay thế các axit amin (hoặc các axit nucleic). Theo các phương án nhất định, các chất dẫn xuất bao gồm các cải biến cộng hóa trị, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, liên kết hóa học với các polyme, lipit, hoặc các gốc hữu cơ hoặc vô cơ khác. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên đã được cải biến về mặt hóa học có thể có thời gian bán thải quay vòng dài hơn protein liên kết kháng nguyên mà không được cải

biến về mặt hóa học. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên đã được cải biến về mặt hóa học có thể có khả năng hướng đích được cải thiện đối với các tế bào, các mô và/hoặc các cơ quan mong muốn. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên dẫn xuất được cải biến theo cách cộng hóa trị để bao gồm một hoặc nhiều vị trí gắn polyme hòa tan trong nước, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyetylen glycol, polyoxyetylen glycol, hoặc polypropylen glycol. Ví dụ, xem các patent Mỹ số: 4,640,835, 4,496,689, 4,301,144, 4,670,417, 4,791,192 và 4,179,337. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên dẫn xuất chứa một hoặc nhiều polyme, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, monometoxy-polyetylen glycol, đextran, xenluloza, hoặc các polyme trên cơ sở hyđrat cacbon khác, poly-(N-vinyl pyroliđon)-polyetylen glycol, homopolyme propylen glycol, co-polyme polypropylen oxit/etylen oxit, rượu polyhyđric đã được polyoxyetyl hóa (ví dụ, glyxerol) và rượu polyvinylic, cũng như các hỗn hợp gồm các polyme này.

Theo các phương án nhất định, chất dẫn xuất được cải biến theo cách cộng hóa trị với cấu trúc siêu phân tử của polyetylen glycol (PEG). Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều polyme hòa tan trong nước được liên kết ở một hoặc nhiều vị trí cụ thể, ví dụ, ở đầu tận cùng amino, của chất dẫn xuất. Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều polyme hòa tan trong nước được gắn một cách ngẫu nhiên vào một hoặc nhiều mạch bên của chất dẫn xuất. Theo các phương án nhất định, PEG được dùng để cải thiện khả năng điều trị đối với protein liên kết kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, PEG được dùng để cải thiện khả năng điều trị đối với kháng thể được làm giống của người. Một vài phương pháp đã biết như vậy được bàn luận, ví dụ, trong patent Mỹ số 6,133,426, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích.

Các chất tương tự peptit thường được dùng trong công nghiệp dược làm các thuốc không có peptit với các tính chất tương tự với các tính chất của peptit khuôn. Các loại hợp chất không có peptit này được gọi là "giả peptit" hoặc "peptit giả". Fauchere, J., *Adv. Drug Res.*, 15:29 (1986); Veber & Freidinger, TINS, p.392 (1985); và Evans *et al.*, *J. Med. Chem.*, 30:1229 (1987), mà được đưa vào đây bằng

cách viện dẫn cho mọi mục đích. Các hợp chất này thường được phát triển với sự trợ giúp của việc dựng mẫu phân tử bằng máy tính. Các chất giả peptit mà là tương tự về mặt cấu trúc với các peptit hữu dụng về mặt điều trị có thể được dùng để mang lại tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa tương tự. Nói chung, các giả peptit là tương tự về mặt cấu trúc với kiểu polypeptit (tức là polypeptit mà có tính chất sinh hóa hoặc hoạt tính dược lý), như kháng thể của người, nhưng có một hoặc nhiều liên kết peptit tùy ý được thế bằng liên kết được chọn từ: --CH_2 NH--, --CH_2 S--, --CH_2 -CH_2 --, --CH=CH-(cis và trans), --$COCH_2$ --, --$CH(OH)CH_2$ --, và --CH_2 SO--, theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Việc thay thế có hệ thống một hoặc nhiều axit amin của trình tự liên ứng với D-axit amin cùng loại (ví dụ, D-lysin thay cho L-lysin) có thể được dùng trong các phương án nhất định để tạo ra các peptit ổn định hơn. Ngoài ra, các peptit không tự nhiên chứa trình tự liên ứng hoặc biến thể trình tự liên ứng hầu như đồng nhất có thể được tạo ra theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (Rizo and Gierasch, *Ann. Rev. Biochem.*, 61:387 (1992), được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích); ví dụ, bằng cách bổ sung gốc xystein nội tại có khả năng tạo ra các cầu đisulfua liên phân tử mà chúng đóng vòng peptit này.

Thuật ngữ "xuất hiện trong tự nhiên" được dùng trong toàn bộ bản mô tả này có liên quan đến các nguyên liệu sinh học như polypeptit, axit nucleic, tế bào chủ, và các nguyên liệu tương tự, dùng để chỉ các nguyên liệu mà được tìm thấy trong tự nhiên hoặc dạng nguyên liệu được tìm thấy trong tự nhiên.

Thuật ngữ "protein liên kết kháng nguyên" (antigen binding protein - "ABP") được dùng trong bản mô tả này để chỉ protein bất kỳ mà nó liên kết kháng nguyên đích đã được quy định. Trong đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế này, kháng nguyên đích đã được quy định là protein PCSK9 hoặc đoạn của nó. "Protein liên kết kháng nguyên" gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể và phần liên kết của chúng, như các đoạn có chức năng miễn dịch. Các kháng thể peptit là một ví dụ khác về các protein liên kết kháng nguyên. Thuật ngữ "đoạn có chức năng miễn dịch" (hoặc đơn giản là "đoạn") của kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên chuỗi globulin miễn dịch (chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ), như được

dùng trong bản mô tả này, là loại protein liên kết kháng nguyên chứa một phần (bất kể phần đó thu được hoặc tổng hợp được bằng cách nào) của kháng thể thiếu ít nhất một vài axit amin trong số các axit amin có mặt trong chuỗi có chiều dài đầy đủ nhưng vẫn có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên. Các đoạn này có hoạt tính sinh học ở chỗ chúng liên kết với kháng nguyên đích và có thể cạnh tranh với các protein liên kết kháng nguyên khác, kể cả các kháng thể nguyên thể, để liên kết với biểu vị nhất định. Theo một số phương án, các đoạn này là các đoạn trung hòa. Theo một số phương án, các đoạn này có thể phong bế hoặc làm giảm khả năng tương tác giữa LDLR và PCSK9. Theo một khía cạnh, đoạn này sẽ giữ ít nhất một CDR có mặt trong chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ, và theo một số phương án sẽ bao gồm một chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ hoặc một phần của chúng. Các đoạn có hoạt tính sinh học này có thể được tạo ra theo các kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc có thể được tạo ra bằng cách phân cắt bằng enzym hoặc theo phương pháp hóa học các protein liên kết kháng nguyên, kể cả các kháng thể nguyên thể. Các đoạn globulin miễn dịch có chức năng về mặt miễn dịch gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Fab, nhị thể (miền thay đổi của chuỗi nặng trên cùng polypeptit như miền thay đổi của chuỗi nhẹ, được nối qua nhóm liên kết peptit ngắn mà nó là quá ngắn để cho phép ghép cặp giữa hai miền trên cùng một chuỗi), Fab', $F(ab')_2$, Fv, các kháng thể miền và các kháng thể chuỗi đơn, và có thể thu được từ nguồn động vật có vú bất kỳ, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người, chuột nhắt, chuột thường, lạc đà hoặc thỏ. Còn dự tính rằng phần chức năng của các protein liên kết kháng nguyên đã được bộc lộ trong bản mô tả này, ví dụ, một hoặc nhiều CDR, có thể được liên kết cộng hóa trị với protein thứ hai hoặc với phân tử nhỏ để tạo ra tác nhân điều trị bệnh hướng đến đích cụ thể trong cơ thể, có tính chất điều trị hai chức, hoặc có thời gian bán thải trong huyết thanh kéo dài. Như được đánh giá cao bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, protein liên kết kháng nguyên có thể bao gồm thành phần không phải là protein. Trong một số phần của bản mô tả này, các ví dụ về ABP được bộc lộ trong bản mô tả này theo "số/chữ/số" (ví dụ, 25A7). Trong các trường hợp này, tên chính xác biểu thị kháng thể cụ thể. Tức là, một ABP có tên 25A7 không nhất thiết là giống kháng thể có

tên 25A7.1, (trừ khi được bộc lộ rõ ràng là giống nhau trong bản mô tả này, ví dụ, 25A7 và 25A7.3). Như được đánh giá cao bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, theo một số phương án, LDLR không là protein liên kết kháng nguyên. Theo một số phương án, các phần phụ liên kết của LDLR không là các protein liên kết kháng nguyên, ví dụ, EGFa. Theo một số phương án, các phân tử khác mà PCSK9 phát tín hiệu qua *in vivo* không là các protein liên kết kháng nguyên. Các phương án này sẽ được xác định rõ ràng như vậy.

Một số protein liên kết kháng nguyên nhất định được bộc lộ trong bản mô tả này là các kháng thể hoặc thu được từ các kháng thể. Theo các phương án nhất định, cấu trúc polypeptit của các protein liên kết kháng nguyên là dựa trên các kháng thể, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể đơn dòng, các kháng thể đặc hiệu kép, các thể mini, các kháng thể miền, các kháng thể tổng hợp (trong bản mô tả này đôi khi được gọi là "giả kháng thể"), các kháng thể khảm, các kháng thể được làm giống của người, các kháng thể của người, các thể dung hợp kháng thể (trong bản mô tả này đôi khi được gọi là "các thể tiếp hợp kháng thể"), và các đoạn của chúng, một cách tương ứng. Theo một số phương án, ABP chứa hoặc bao gồm các avime (peptit liên kết chắc). Các protein liên kết kháng nguyên khác nhau này sẽ được bộc lộ thêm trong bản mô tả.

Vùng "Fc" chứa hai đoạn của chuỗi nặng chứa các miền C_H1 và C_H2 của kháng thể. Hai đoạn của chuỗi nặng được giữ cùng nhau nhờ hai hoặc nhiều liên kết đisulfua và bằng các tương tác kỵ nước của các miền C_H3.

"Đoạn Fab" chứa một chuỗi nhẹ và C_H1 và các vùng thay đổi của một chuỗi nặng. Chuỗi nặng của phân tử Fab không thể tạo liên kết đisulfua với phân tử chuỗi nặng khác.

"Đoạn Fab'" chứa một chuỗi nhẹ và một phần của một chuỗi nặng mà chứa miền VH và miền C_H1 và cả vùng giữa miền C_H1 và miền C_H2, sao cho liên kết đisulfua liên chuỗi có thể được tạo ra giữa hai chuỗi nặng của hai đoạn Fab' để tạo ra phân tử $F(ab')_2$.

"Đoạn $F(ab')_2$" chứa hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng chứa một phần của vùng ổn định nằm giữa miền C_H1 và miền C_H2, sao cho liên kết đisulfua liên chuỗi

được tạo ra giữa hai chuỗi nặng này. Do đó, đoạn $F(ab')_2$ chứa hai đoạn Fab' mà được giữ cùng nhau nhờ liên kết đisulfua giữa hai chuỗi nặng này.

"Vùng Fv" chứa vùng thay đổi từ cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, nhưng không có vùng ổn định.

"Các kháng thể chuỗi đơn" là các phân tử Fv, trong đó các vùng thay đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được liên kết bởi nhóm liên kết linh hoạt để tạo ra một chuỗi polypeptit, mà tạo nên vùng liên kết kháng nguyên. Các kháng thể chuỗi đơn đã được bàn luận đến một cách chi tiết trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 88/01649 và các patent Mỹ số 4,946,778 và 5,260,203, phần bộc lộ của chúng được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

"Kháng thể miền" là đoạn globulin miễn dịch có chức năng miễn dịch chỉ chứa vùng thay đổi của chuỗi nặng hoặc vùng thay đổi của chuỗi nhẹ. Trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều vùng V_H được kết hợp cộng hóa trị với nhóm liên kết peptit để tạo ra kháng thể miền hóa trị hai. Hai vùng V_H của kháng thể miền hóa trị hai có thể hướng đích đến cùng một kháng nguyên hoặc kháng nguyên khác nhau.

"Protein liên kết kháng nguyên hóa trị hai" hoặc "kháng thể hóa trị hai" chứa hai vị trí liên kết kháng nguyên. Trong một số trường hợp, hai vị trí liên kết này có cùng tính đặc hiệu đối với kháng nguyên. Các protein liên kết kháng nguyên hóa trị hai và các kháng thể hóa trị hai có thể có tính đặc hiệu kép, xem dưới đây. Kháng thể hóa trị hai khác với kháng thể "đa đặc hiệu" hoặc "đa chức", theo các phương án nhất định, thường được hiểu là có các vị trí liên kết của nó giống hệt nhau.

"Protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu" hoặc "kháng thể đa đặc hiệu" là loại mà hướng đích đến nhiều hơn một kháng nguyên hoặc biểu vị.

Protein liên kết kháng nguyên hoặc kháng thể "đặc hiệu kép", "lưỡng đặc hiệu" hoặc "hai chức" lần lượt là protein liên kết kháng nguyên lai hoặc kháng thể lai, có hai vị trí liên kết kháng nguyên khác nhau. Các protein liên kết kháng nguyên và các kháng thể đặc hiệu kép là các loại kháng thể protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và có thể được tạo ra theo nhiều phương pháp khác nhau gồm,

nhưng không chỉ giới hạn ở, cách dung hợp khối lai hoặc liên kết các đoạn Fab'. Ví dụ, xem: Songsivilai and Lachmann, 1990, *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321; Kostelny *et al.*, 1992, *J. Immunol.* 148:1547-1553. Hai vị trí liên kết của protein liên kết kháng nguyên hoặc kháng thể đặc hiệu kép sẽ liên kết với hai biểu vị khác nhau, mà có thể nằm trên cùng một đích protein hoặc các đích protein khác nhau.

Protein liên kết kháng nguyên được gọi là "liên kết một cách đặc hiệu" với kháng nguyên đích của nó nếu hằng số phân ly (K_d) $\leq 10^{-7}$M. ABP liên kết một cách đặc hiệu với kháng nguyên với "ái lực cao" nếu $K_d \leq 5 \times 10^{-9}$M, và với "ái lực rất cao" nếu $K_d \leq 5 \times 10^{-10}$M. Theo một phương án, ABP có $K_d \leq 10^{-9}$M. Theo một phương án, mức ngưỡng là $<1 \times 10^{-5}$. Theo các phương án khác, ABP sẽ liên kết với PCSK9 của người với K_d nằm trong khoảng từ 10^{-9}M đến 10^{-13}M, và theo phương án khác nữa, ABP sẽ liên kết với $K_d \leq 5 \times 10^{-10}$. Như được đánh giá cao bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, theo một số phương án, bất kỳ hoặc tất cả các đoạn liên kết kháng nguyên có thể liên kết đặc hiệu với PCSK9.

Protein liên kết kháng nguyên là "chọn lọc" nếu nó liên kết với một đích chắc chắn hơn liên kết với đích thứ hai.

"Vùng liên kết kháng nguyên" có nghĩa là protein, hoặc phần của protein, mà liên kết một cách đặc hiệu kháng nguyên đã quy định (ví dụ, cận vị). Ví dụ, phần protein liên kết kháng nguyên mà chứa các gốc axit amin tương tác với kháng nguyên và mang lại cho protein liên kết kháng nguyên này tính đặc hiệu và ái lực đối với kháng nguyên được gọi là "vùng liên kết kháng nguyên". Vùng liên kết kháng nguyên thường bao gồm một hoặc nhiều "vùng liên kết bổ trợ" ("CDR"). Một số vùng liên kết kháng nguyên nhất định cũng bao gồm một hoặc nhiều vùng "khung". "CDR" là trình tự axit amin mà góp phần vào tính đặc hiệu và ái lực của liên kết kháng nguyên. Các vùng "khung" có thể hỗ trợ trong việc duy trì cấu hình thích hợp của các CDR để thúc đẩy liên kết giữa vùng liên kết kháng nguyên và kháng nguyên. Về mặt cấu trúc, các vùng khung có thể nằm trên các kháng thể giữa các CDR. Các ví dụ về các vùng khung và các vùng CDR được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig. 2A đến Fig. 3D, 3CCC đến 3JJJ. Theo một số phương án, các trình tự cho các CDR cho chuỗi nhẹ của kháng thể 3B6 là như sau: CDR1

TLSSGYSSYEVD (SEQ ID NO: 279); CDR2 VDTGGIVGSKGE (SEQ ID NO: 280); CDR3 GADHGSGTNFVVV (SEQ ID NO: 281), và FR là như sau: FR1 QPVLTQPLFASASLGASVTLTC (SEQ ID NO: 282); FR2 WYQQRPGKGPRFVMR (SEQ ID NO: 283); FR3 GIPDRFSVLGSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHC (SEQ ID NO: 284); và FR4 FGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 285).

Theo một số khía cạnh nhất định, các protein liên kết kháng nguyên tái tổ hợp mà liên kết PCSK9, ví dụ, PCSK9 của người, được đề xuất. Trong bản mô tả này, "protein liên kết kháng nguyên tái tổ hợp" là protein được tạo ra bằng cách áp dụng các kỹ thuật tái tổ hợp, tức là thông qua sự biểu hiện của axit nucleic tái tổ hợp như được bộc lộ trong bản mô tả này. Các phương pháp và kỹ thuật để sản xuất các protein tái tổ hợp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ "kháng thể" được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ globulin miễn dịch nguyên vẹn của kiểu tương đương bất kỳ, hoặc đoạn của chúng mà có thể cạnh tranh với kháng thể nguyên vẹn cho liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đích, và bao gồm, ví dụ, kháng thể khảm, kháng thể được làm giống của người, kháng thể đầy đủ của người, và các kháng thể đặc hiệu kép. "Kháng thể" là loại protein liên kết kháng nguyên. Nói chung, kháng thể nguyên vẹn thường sẽ bao gồm ít nhất hai chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ và hai chuỗi nhẹ có chiều dài đầy đủ, nhưng trong một số trường hợp có thể bao gồm ít chuỗi hơn như các kháng thể xuất hiện trong tự nhiên ở lạc đà mà trong đó có thể chỉ chứa chuỗi nặng. Các kháng thể có thể chỉ thu được từ một nguồn, hoặc có thể là "khảm", tức là các phần khác nhau của kháng thể có thể thu được từ hai kháng thể khác nhau như được bộc lộ tiếp dưới đây. Các protein liên kết kháng nguyên, các kháng thể, hoặc các đoạn liên kết có thể được tạo ra trong các khối lai, theo các kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc bằng cách phân cắt bằng enzym hoặc theo phương pháp hóa học các kháng thể nguyên thể. Trừ khi có quy định cụ thể khác, thuật ngữ "kháng thể" bao gồm, ngoài các kháng thể chứa hai chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ và hai chuỗi nhẹ có chiều dài đầy đủ, các chất dẫn xuất, các biến thể, các đoạn, và các protein đột biến của chúng, các ví dụ về chúng được bộc lộ dưới đây. Ngoài ra, trừ khi được loại

trừ một cách cụ thể, các kháng thể bao gồm các kháng thể đơn dòng, các kháng thể đặc hiệu kép, các thể mini, các kháng thể miền, các kháng thể tổng hợp (trong bản mô tả này đôi khi được gọi là "giả kháng thể"), các kháng thể khảm, các kháng thể được làm giống của người, các kháng thể của người, các thể dung hợp kháng thể (trong bản mô tả này đôi khi được gọi là "các thể tiếp hợp kháng thể"), và các đoạn của chúng, một cách lần lượt. Theo một số phương án, thuật ngữ này còn bao hàm cả các kháng thể peptit.

Các đơn vị cấu trúc của kháng thể xuất hiện trong tự nhiên thường bao gồm tetrame. Mỗi tetrame này thường bao gồm hai cặp chuỗi polypeptit giống nhau, mỗi cặp có một chuỗi "nhẹ" có chiều dài đầy đủ (theo các phương án nhất định, khoảng 25kDa) và một chuỗi "nặng" có chiều dài đầy đủ (theo các phương án nhất định, khoảng từ 50kDa đến 70kDa). Phần đầu tận cùng amin của mỗi chuỗi thường bao gồm vùng thay đổi chứa khoảng 100 đến 110 axit amin hoặc nhiều hơn mà thường chịu trách nhiệm về việc nhận biết kháng nguyên. Phần đầu tận cùng carboxy mỗi chuỗi thường xác định vùng ổn định mà có thể chịu trách nhiệm về chức năng của chất tác động. Các chuỗi nhẹ của người thường được phân loại thành chuỗi nhẹ kapa và chuỗi nhẹ lamda. Các chuỗi nặng thường được phân loại thành mu, delta, gama, alpha, hoặc epsilon, và xác định kiểu tương đương của kháng thể lần lượt là IgM, IgD, IgG, IgA, và IgE. IgG có vài nhóm phụ, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4. IgM có các nhóm phụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IgM1 và IgM2. IgA được chia tiếp theo cách tương tự thành các nhóm phụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IgA1 và IgA2. Trong chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ, vùng thay đổi và vùng ổn định được kết hợp bởi vùng "J" gồm khoảng 12 axit amin hoặc nhiều hơn, với chuỗi nặng cũng bao gồm vùng "D" gồm khoảng 10 axit amin. Ví dụ, xem: *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích). Các vùng thay đổi của mỗi cặp chuỗi nhẹ/chuỗi nặng thường tạo nên vị trí liên kết kháng nguyên.

Các vùng thay đổi thường thể hiện cấu trúc chung giống nhau của các vùng khung (FR) bảo toàn tương đối được kết hợp bằng ba vùng siêu thay đổi, còn được

gọi các vùng xác định bổ trợ hoặc CDR. Các CDR từ hai chuỗi của mỗi cặp thường được sắp hàng trình tự theo các vùng khung, mà có thể cho phép liên kết với biểu vị đặc hiệu. Từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C, các vùng thay đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng thường bao gồm các miền FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 và FR4. Việc chỉ định các axit amin cho từng miền thường là theo định nghĩa nêu trong tài liệu: *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 và 1991)), hoặc Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987); Chothia *et al.*, *Nature*, 342:878-883 (1989).

Theo các phương án nhất định, chuỗi nặng của kháng thể liên kết với kháng nguyên không có mặt chuỗi nhẹ của kháng thể. Theo các phương án nhất định, chuỗi nhẹ của kháng thể liên kết với kháng nguyên không có mặt chuỗi nặng của kháng thể. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết kháng thể liên kết với kháng nguyên không có mặt chuỗi nhẹ của kháng thể. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết kháng thể liên kết với kháng nguyên khi không có mặt chuỗi nặng của kháng thể. Theo các phương án nhất định, từng vùng thay đổi liên kết đặc hiệu với kháng nguyên không có mặt các vùng thay đổi khác.

Theo các phương án nhất định, phác thảo cuối cùng về CDR và việc xác định các gốc chứa vị trí liên kết của kháng thể được thực hiện bằng cách phân giải cấu trúc của kháng thể và/hoặc bằng cách phân giải cấu trúc của phức kháng thể-phối tử. Theo các phương án nhất định, mà có thể được hoàn thành theo kỹ thuật bất kỳ trong số các loại kỹ thuật mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết, như tinh thể học tia X. Theo các phương án nhất định, các phương pháp phân tích khác nhau có thể được áp dụng để xác định hoặc ước chừng các vùng CDR. Các ví dụ về các phương pháp này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, định nghĩa theo Kabat, định nghĩa theo Chothia, định nghĩa theo AbM và định nghĩa tiếp xúc.

Định nghĩa theo Kabat là chuẩn cho việc đánh số các gốc trong kháng thể và thường được áp dụng để xác định các vùng CDR. Ví dụ, xem: Johnson & Wu, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8 (2000). Định nghĩa theo Chothia là tương tự định

nghĩa theo Kabat, nhưng định nghĩa theo Chothia có tính đến các vị trí của một số vùng cấu trúc vòng. Ví dụ, xem: Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17 (1986); Chothia *et al.*, *Nature*, 342: 877-83 (1989). Định nghĩa theo AbM sử dụng bộ tích hợp chương trình máy tính được tạo ra bởi nhóm Phân tử Oxford (Oxford Molecular Group) dựng mẫu cấu trúc kháng thể. Ví dụ, xem: Martin *et al.*, *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272 (1989); "AbM™, *A Computer Program for Modeling Variable Region of Antibodies*, Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd. Định nghĩa theo AbM dựng mẫu cấu trúc bậc ba của kháng thể từ trình tự bậc một bằng cách sử dụng kết hợp các cơ sở dữ liệu kiến thức và các phương pháp *ab initio*, như được bộc lộ trong: Samudrala *et al.*, "*Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach*", in *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198 (1999). Định nghĩa tiếp xúc là dựa trên cơ sở phân tích các cấu trúc tinh thể phức sẵn có. Ví dụ, xem: MacCallum *et al., J. Mol. Biol.*, 5:732-45 (1996).

Thông thường, các vùng CDR trong chuỗi nặng được gọi là H1, H2, và H3 và được đánh số lần lượt theo hướng từ đầu tận cùng amin đến đầu tận cùng carboxy. Các vùng CDR trong chuỗi nhẹ thường được gọi là L1, L2, và L3 và được đánh số lần lượt theo hướng từ đầu tận cùng amin đến đầu tận cùng carboxy.

Thuật ngữ "chuỗi nhẹ" bao gồm chuỗi nhẹ có chiều dài đầy đủ và các đoạn của chúng có trình tự vùng thay đổi đủ để mang lại tính đặc hiệu liên kết. Chuỗi nhẹ có chiều dài đầy đủ bao gồm miền chứa vùng thay đổi, V_L, và miền chứa vùng ổn định, C_L. Miền chứa vùng thay đổi của chuỗi nhẹ là ở đầu tận cùng amin của polypeptit. Các chuỗi nhẹ bao gồm các chuỗi kapa và các chuỗi lamda.

Thuật ngữ "chuỗi nặng" bao gồm chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ và các đoạn của chúng có trình tự vùng thay đổi đủ để mang lại tính đặc hiệu liên kết. Chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ bao gồm miền chứa vùng thay đổi, V_H, và ba miền chứa vùng ổn định, C_H1, C_H2, và C_H3. Miền V_H là ở đầu tận cùng amin của polypeptit, và các miền C_H ở đầu tận cùng carboxyl, trong đó C_H3 là gần nhất với đầu tận cùng carboxy của polypeptit. Các chuỗi nặng có thể có kiểu tương đương

bất kỳ, bao gồm IgG (bao gồm kiểu phụ IgG1, kiểu phụ IgG2, kiểu phụ IgG3 và kiểu phụ IgG4), IgA (bao gồm kiểu phụ IgA1 và kiểu phụ IgA2), IgM và IgE.

Kháng thể đặc hiệu kép hoặc kháng thể hai chức thường là kháng thể lai nhân tạo có hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau và hai vị trí liên kết khác nhau. Các kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra theo nhiều phương pháp khác nhau gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cách dung hợp khối lai hoặc liên kết các đoạn Fab'. Ví dụ, xem: Songsivilai *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, 79: 315-321 (1990); Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148:1547-1553 (1992).

Một số loài động vật có vú cũng tạo ra các kháng thể chỉ có một chuỗi nặng.

Từng chuỗi globulin miễn dịch riêng lẻ thường được cấu thành bởi vài "miền globulin miễn dịch", mỗi miền chứa khoảng từ 90 đến 110 axit amin và có kiểu gấp nếp đặc trưng. Các miền này là các đơn vị bazơ cấu thành nên polypeptit của kháng thể. Ở người, các kiểu tương đương IgA và IgD chứa bốn chuỗi nặng và bốn chuỗi nhẹ; kiểu tương đương IgG và kiểu tương đương IgE chứa hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ; và kiểu tương đương IgM chứa năm chuỗi nặng và năm chuỗi nhẹ. Vùng chuỗi nặng C thường chứa một hoặc nhiều vùng mà có thể chịu trách nhiệm về chức năng của chất tác động. Số miền chứa vùng ổn định chuỗi nặng sẽ phụ thuộc vào kiểu tương đương. Các chuỗi nặng IgG, ví dụ, chứa ba miền chứa vùng C đã được biết là C_H1, C_H2 và C_H3. Các kháng thể tạo ra có thể thuộc kiểu tương đương bất kỳ trong số các kiểu tương đương và các kiểu phụ. Theo các phương án nhất định theo sáng chế, kháng thể kháng PCSK9 thuộc kiểu phụ IgG2 hoặc kiểu phụ IgG4.

Thuật ngữ "miền thay đổi" hoặc "vùng thay đổi" dùng để chỉ một phần của chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể, thường là bao gồm khoảng từ 120 đến 130 axit amin ở đầu tận cùng amino của chuỗi nặng và khoảng 100 đến 110 axit amin ở đầu tận cùng amino của chuỗi nhẹ. Theo các phương án nhất định, các vùng thay đổi của các kháng thể khác nhau khác biệt đáng kể về trình tự axit amin ngay cả giữa các kháng thể thuộc cùng một loài. Vùng thay đổi của kháng thể thường xác định tính đặc hiệu của kháng thể cụ thể đối với đích của nó.

Các thuật ngữ "protein liên kết kháng nguyên trung hòa" hoặc "kháng thể trung hòa" được dùng để chỉ lần lượt protein liên kết kháng nguyên hoặc kháng thể mà liên kết với phối tử và ngăn ngừa hoặc làm giảm tác dụng sinh học của phối tử đó. Điều này có thể xảy ra, ví dụ, bằng cách phong bế trực tiếp vị trí liên kết trên phối tử hoặc nhờ liên kết với phối tử và làm thay đổi khả năng của phối tử trong việc liên kết theo cách không trực tiếp (như thay đổi về mặt cấu trúc hoặc thay đổi về mặt năng lượng ở phối tử). Theo một số phương án, thuật ngữ này còn có thể biểu thị protein liên kết kháng nguyên mà ngăn chặn protein mà nó liên kết không thực hiện chức năng sinh học. Khi đánh giá tính liên kết và/hoặc tính đặc hiệu của protein liên kết kháng nguyên, ví dụ, kháng thể hoặc đoạn có chức năng miễn dịch của chúng, kháng thể hoặc đoạn có thể ức chế đáng kể liên kết của phối tử với đối tác liên kết của nó nếu lượng dư kháng thể làm giảm lượng đối tác liên kết liên kết với phối tử ít nhất là khoảng từ 1 đến 20, từ 20% đến 30%, từ 30% đến 40%, từ 40% đến 50%, từ 50% đến 60%, từ 60% đến 70%, từ 70% đến 80%, từ 80% đến 85%, từ 85% đến 90%, từ 90% đến 95%, từ 95% đến 97%, từ 97% đến 98%, từ 98% đến 99% hoặc nhiều hơn nữa (như được đo theo thử nghiệm liên kết cạnh tranh *in vitro*). Theo một số phương án, trong trường hợp các protein liên kết kháng nguyên PCSK9, phân tử trung hòa này có thể làm giảm khả năng của PCSK9 liên kết với LDLR. Theo một số phương án, khả năng trung hòa được xác định và/hoặc mô tả thông qua thử nghiệm cạnh tranh. Theo một số phương án, khả năng trung hòa được mô tả theo trị số IC_{50} hoặc EC_{50}. Theo một số phương án, các ABP 27B2, 13H1, 13B5 và 3C4 là các ABP không trung hòa, 3B6, 9C9 và 31A4 là các chất trung hòa yếu, và các ABP còn lại trong Bảng 2 là các chất trung hòa mạnh. Theo một số phương án, các kháng thể hoặc các protein liên kết kháng nguyên trung hòa bằng liên kết với PCSK9 và ngăn ngừa PCSK9 liên kết với LDLR (hoặc làm giảm khả năng của PCSK9 liên kết với LDLR). Theo một số phương án, các kháng thể hoặc ABP trung hòa bằng liên kết với PCSK9, và trong khi vẫn cho phép PCSK9 liên kết với LDLR, ngăn ngừa hoặc làm giảm sự thoái biến LDLR được trung gian bởi PCSK9. Do đó, theo một số phương án, ABP hoặc kháng thể trung hòa có thể vẫn cho phép liên kết của PCSK9/LDLR, nhưng sẽ

ngăn ngừa (hoặc làm giảm) sự tham gia của PCSK9 vào quá trình thoái biến LDLR.

Thuật ngữ "đích" được dùng để chỉ phân tử hoặc phần phân tử có khả năng được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, đích có thể có một hoặc nhiều biểu vị. Theo các phương án nhất định, đích là kháng nguyên. Việc sử dụng "kháng nguyên" trong thuật ngữ "protein liên kết kháng nguyên" đơn giản biểu thị rằng trình tự protein mà chứa kháng nguyên có thể được liên kết bởi kháng thể. Trong bản mô tả này, không yêu cầu rằng protein là lạ hoặc có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch.

Thuật ngữ "cạnh tranh" được dùng liên quan đến các protein liên kết kháng nguyên (ví dụ, các protein liên kết kháng nguyên trung hòa hoặc các kháng thể trung hòa) mà cạnh tranh cùng một biểu vị có nghĩa là sự cạnh tranh giữa các protein liên kết kháng nguyên như được xác định theo thử nghiệm, trong đó protein liên kết kháng nguyên (ví dụ, kháng thể hoặc đoạn có chức năng miễn dịch của chúng) được thử nghiệm để ngăn ngừa hoặc ức chế (ví dụ, làm giảm) liên kết đặc hiệu của protein liên kết kháng nguyên quy chiếu (ví dụ, phối tử, hoặc kháng thể quy chiếu) với kháng nguyên chung (ví dụ, PCSK9 hoặc đoạn của chúng). Nhiều loại thử nghiệm liên kết cạnh tranh có thể được dùng để xác định xem liệu một protein liên kết kháng nguyên có cạnh tranh với một protein liên kết kháng nguyên khác hay không, ví dụ: thử nghiệm miễn dịch phóng xạ pha rắn trực tiếp hoặc gián tiếp (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym pha rắn trực tiếp hoặc gián tiếp (EIA), thử nghiệm kẹp cạnh tranh (xem: *ví dụ,* Stahli *et al.*, 1983, *Methods in Enzymology* 9:242-253); EIA biotin-aviđin pha rắn trực tiếp (xem: *ví dụ,* Kirkland *et al.*, 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619), thử nghiệm đánh dấu pha rắn trực tiếp, thử nghiệm kẹp đánh dấu pha rắn trực tiếp (xem: *ví dụ,* Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA đánh dấu pha rắn trực tiếp bằng cách sử dụng nhãn ghi dấu I-125 (xem: *ví dụ,* Morel *et al.*, 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15); EIA biotin-aviđin pha rắn trực tiếp (xem: *ví dụ,* Cheung, *et al.*, 1990, *Virology* 176:546-552); và RIA đánh dấu trực tiếp (Moldenhauer *et al.*, 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82). Nói chung, thử nghiệm này bao gồm bước sử

dụng kháng nguyên tinh khiết liên kết với bề mặt rắn hoặc các tế bào mang một trong số các, protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm không được đánh dấu và protein liên kết kháng nguyên quy chiếu được đánh dấu. Mức độ ức chế cạnh tranh được đo bằng cách xác định lượng nhãn ghi dấu liên kết với bề mặt rắn hoặc các tế bào với sự có mặt của protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm. Thông thường, protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm có mặt với lượng dư. Các protein liên kết kháng nguyên được xác định theo thử nghiệm cạnh tranh (cạnh tranh các protein liên kết kháng nguyên) bao gồm các protein liên kết kháng nguyên liên kết với cùng biểu vị như các protein liên kết kháng nguyên quy chiếu và các protein liên kết kháng nguyên liên kết với biểu vị liền kề đủ gần biểu vị được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên quy chiếu để xảy ra cản trở về mặt không gian. Các chi tiết bổ sung về các phương pháp để xác định liên kết cạnh tranh được bộc lộ trong các ví dụ của bản mô tả này. Nói chung, khi protein liên kết kháng nguyên cạnh tranh có mặt với lượng dư, nó sẽ ức chế (ví dụ, làm giảm) liên kết đặc hiệu của protein liên kết kháng nguyên quy chiếu với kháng nguyên chung ít nhất là từ 40% đến 45%, từ 45% đến 50%, từ 50% đến 55%, từ 55% đến 60%, từ 60% đến 65%, từ 65% đến 70%, từ 70% đến 75% hoặc 75% hoặc nhiều hơn. Trong một số trường hợp, liên kết bị ức chế ít nhất là từ 80% đến 85%, từ 85% đến 90%, từ 90% đến 95%, từ 95% đến 97%, hoặc 97% hoặc lớn hơn.

Thuật ngữ "kháng nguyên" được dùng để chỉ phân tử hoặc một phần phân tử có khả năng liên kết với tác nhân liên kết chọn lọc, như protein liên kết kháng nguyên (bao gồm, ví dụ, kháng thể hoặc đoạn có chức năng miễn dịch của nó). Theo một số phương án, kháng nguyên có khả năng được dùng ở động vật để tạo ra các kháng thể có khả năng liên kết với kháng nguyên đó. Kháng nguyên có thể có một hoặc nhiều biểu vị mà có khả năng tương tác với các protein liên kết kháng nguyên khác nhau, ví dụ, các kháng thể.

Thuật ngữ "biểu vị" bao gồm yếu tố quyết định bất kỳ có khả năng liên kết với protein liên kết kháng nguyên, như kháng thể hoặc thụ thể tế bào T. Biểu vị là một vùng của kháng nguyên mà được liên kết bởi protein liên kết kháng nguyên mà hướng đích đến kháng nguyên đó, và nếu kháng nguyên là protein, bao gồm

các axit amin đặc hiệu mà tiếp xúc trực tiếp với protein liên kết kháng nguyên. Thông thường nhất, các biểu vị nằm trên các protein, nhưng trong một số trường hợp chúng có thể nằm trên các loại phân tử khác, như axit nucleic. Các yếu tố xác định biểu vị có thể bao gồm các nhóm có hoạt tính bề mặt về mặt hóa học của các phân tử như axit amin, mạch bên của đường, nhóm phosphoryl hoặc nhóm sulfonyl, và có thể có tính chất cấu trúc ba chiều đặc hiệu, và/hoặc tính chất tích điện đặc hiệu. Nói chung, các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên đích cụ thể sẽ ưu tiên nhận diện biểu vị trên kháng nguyên đích trong hỗn hợp phức gồm các protein và/hoặc đại phân tử.

Thuật ngữ "hầu như tinh khiết" được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ các loại phân tử đã bộc lộ là loại chủ yếu có mặt, tức là, tính theo phân tử gam, nó có mặt nhiều hơn từng loại bất kỳ khác trong cùng hỗn hợp. Theo các phương án nhất định, phân tử hầu như tinh khiết là chế phẩm, trong đó loại đối tượng chứa ít nhất 50% (tính theo phân tử gam) của tất cả các loại đại phân tử có mặt. Theo các phương án khác, chế phẩm hầu như tinh khiết chứa ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 99% các loại đại phân tử có mặt trong chế phẩm này. Theo các phương án khác, loại đối tượng được tinh chế đến hầu như đồng nhất, trong đó không thể xác định được các loại tạp nhiễm trong chế phẩm này theo các phương pháp phát hiện thông thường và do đó chế phẩm này chứa một loại đại phân tử dò được.

Thuật ngữ "tác nhân" được dùng trong bản mô tả này để biểu thị hợp chất hóa học, hỗn hợp gồm các hợp chất hóa học, đại phân tử sinh học, hoặc chiết xuất từ các nguyên liệu sinh học.

Các thuật ngữ "nhãn ghi dấu" hoặc "được đánh dấu" được dùng trong bản mô tả này để chỉ sự kết hợp của chỉ thị dò được, ví dụ, bằng cách kết hợp axit amin đã được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ hoặc gắn vào polypeptit của các gốc biotin mà có thể được dò bằng aviđin đã được đánh dấu (ví dụ, streptaviđin chứa chỉ thị huỳnh quang hoặc hoạt tính enzym mà có thể được dò thấy theo phương pháp quang học hoặc phương pháp đo màu). Theo các phương án nhất định, nhãn ghi dấu hoặc chỉ thị còn có thể có tác dụng điều trị. Các phương pháp đánh dấu các polypeptit và glycoprotein khác nhau là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có

thể được sử dụng. Các ví dụ về nhãn ghi dấu đối với các polypeptit gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các loại sau: đồng vị phóng xạ hoặc các đồng vị phóng xạ (ví dụ, ^{3}H, ^{14}C, ^{15}N, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I), nhãn ghi dấu huỳnh quang (ví dụ, các chất phát quang FITC, rhodamin, lanthanit), các nhãn ghi dấu enzym (ví dụ, peroxiđaza của củ cải ngựa, β-galactosiđaza, luxiferaza, phosphataza kiềm), chất phát quang hóa học, nhóm biotinyl, các biểu vị polypeptit đã định trước được nhận diện được bởi chất thông báo phụ (ví dụ, các trình tự cặp khóa leuxin, vị trí liên kết cho các kháng thể phụ, các miền liên kết kim loại, các thẻ biểu vị). Theo các phương án nhất định, các nhãn ghi dấu được gắn bởi các nhánh đệm có chiều dài khác nhau để làm giảm sự cản trở tiềm năng về mặt không gian.

Thuật ngữ "mẫu sinh học" được dùng trong bản mô tả này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lượng bất kỳ của vật chất từ vật sống hoặc vật đã là sống. Các vật sống này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người, chuột nhắt, khỉ, chuột thường, thỏ, và các động vật khác. Các vật chất này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, máu, huyết thanh, nước tiểu, tế bào, các cơ quan, mô, xương, tủy xương, hạch bạch huyết, và da.

Thuật ngữ "thành phần tác nhân dược" (hoặc tác nhân hoặc thuốc) được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ hợp chất hóa học, chế phẩm, tác nhân hoặc thuốc có khả năng gây ra tác dụng điều trị bệnh mong muốn khi được dùng một cách thích hợp cho bệnh nhân. Nó không nhất thiết cần nhiều hơn một loại thành phần.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu để điều trị bệnh" dùng để chỉ lượng protein liên kết kháng nguyên PCSK9 được xác định để tạo ra đáp ứng điều trị ở động vật có vú. Lượng hữu hiệu điều trị bệnh này được xác định một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ "tác nhân điều biến" được dùng trong bản mô tả này để chỉ hợp chất mà làm biến đổi hoặc thay đổi hoạt tính hoặc chức năng của phân tử. Ví dụ, tác nhân điều biến có thể làm tăng hoặc làm giảm cường độ của hoạt tính hoặc chức năng nhất định của phân tử so với cường độ của hoạt tính hoặc chức năng quan sát được khi không có mặt tác nhân điều biến đó. Theo các phương án nhất

định, tác nhân điều biến là chất ức chế, mà làm giảm cường độ của ít nhất một hoạt tính hoặc chức năng của phân tử. Các hoạt tính và chức năng được đưa ra làm ví dụ của phân tử gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ái lực liên kết, hoạt tính enzym, và tải nạp tín hiệu. Các chất ức chế nhất định làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các protein, các peptit, các kháng thể, các kháng thể peptit, các hyđrat cacbon hoặc các phân tử hữu cơ nhỏ. các kháng thể peptit được bộc lộ, ví dụ, trong patent Mỹ số 6,660,843 (tương ứng với công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 01/83525).

Các thuật ngữ "bệnh nhân" và "đối tượng" được sử dụng thay thế nhau và bao gồm đối tượng là người và động vật không phải cũng như các đối tượng mà mắc các rối loạn đã được chẩn đoán trước đó, các đối tượng không mắc các rối loạn đã được nhận biết trước đó, các đối tượng được chăm sóc về mặt y tế, các đối tượng có nguy cơ tiến triển các rối loạn, v.v..

Các thuật ngữ "điều trị" và "việc điều trị" bao gồm việc điều trị bệnh, điều trị nhằm mục đích phòng ngừa, và các ứng dụng làm giảm nguy cơ tiến triển rối loạn bệnh lý hoặc yếu tố nguy cơ khác ở đối tượng. Việc điều trị không cần chữa khỏi hoàn toàn rối loạn bệnh lý và bao hàm các phương án làm giảm các triệu chứng hoặc các yếu tố nguy cơ cơ bản.

Thuật ngữ "ngăn ngừa" không cần loại bỏ 100% khả năng xảy ra biến cố. Đúng hơn, thuật ngữ này biểu thị khả năng xảy ra biến cố đã được làm giảm với sự có mặt của hợp chất hoặc phương pháp.

Các kỹ thuật chuẩn có thể được áp dụng cho ADN tái tổ hợp, tổng hợp oligonucleotit, và nuôi cấy mô và biến nạp (ví dụ, xung điện, chuyển nhiễm liposom). Các phản ứng enzym và các kỹ thuật tinh chế có thể được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc như thường được thực hiện trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc như được bộc lộ trong bản mô tả này. Các kỹ thuật và các quy trình nêu trên thường được thực hiện theo các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và như đã được bộc lộ trong các tài liệu viện dẫn chung và cụ thể khác nhau mà được trích dẫn và bàn luận trong bản mô tả này. Ví dụ, xem: Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring

Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích. Trừ khi có nêu định nghĩa cụ thể, các tên danh pháp được dùng liên quan đến, và các quy trình và kỹ thuật phòng thí nghiệm thuộc lĩnh vực, hóa học phân tích, hóa học hữu cơ tổng hợp, và hóa y và hóa dược được bộc lộ trong bản mô tả này là đã biết và thường được dùng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kỹ thuật chuẩn có thể được áp dụng cho các quy trình tổng hợp hóa học, các phân tích hóa học, quy trình bào chế dược phẩm, dạng bào chế, và phân phối dược phẩm, và phương pháp điều trị của bệnh nhân.

Các protein liên kết kháng nguyên với PCSK9

Enzym chuyển hóa proprotein subtilisin kexin typ 9 (PCSK9) là serin proteaza có liên quan đến việc điều chỉnh hàm lượng protein của thụ thể lipoprotein tỷ trọng thấp (LDLR) (Horton *et al.*, 2007; Seidah and Prat, 2007). PCSK9 là enzym chuyển hóa prohormon-proprotein trong họ subtilisin (S8) gồm các serin proteaza (Seidah *et al.*, 2003). Trình tự axit amin của PCSK9 của người được đưa ra làm ví dụ được thể hiện là SEQ ID NO: 1 và 3. trên Fig. 1A (biểu thị miền proprotein (pro domain) bằng cách gạch chân) và Fig. 1B (biểu thị trình tự tín hiệu bằng cách in đậm và miền proprotein (pro domain) bằng cách gạch chân). Trình tự mã hóa PCSK9 của người được đưa ra làm ví dụ được thể hiện là SEQ ID NO: 2 (Fig. 1B). Như được bộc lộ trong bản mô tả này, các protein PCSK9 còn có thể bao gồm các đoạn của protein PCSK9 có chiều dài đầy đủ. Cấu trúc của protein PCSK9 đã được phân giải bởi hai nhóm (Cunningham et al., *Nature Structural & Molecular Biology*, 2007, và Piper et al., *Structure*, 15:1-8, 2007), cả hai được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn. PCSK9 bao gồm trình tự tín hiệu, miền proprotein (pro domain) ở đầu tận cùng N, miền xúc tác giống subtilisin và miền đầu tận cùng C.

Các protein liên kết kháng nguyên (ABP) mà liên kết PCSK9, bao gồm PCSK9 của người, được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên bộc lộ là các polypeptit mà bao gồm một hoặc nhiều vùng xác định bổ trợ (complementary determining region - CDR), như được bộc lộ

trong bản mô tả này. Trong một số protein liên kết kháng nguyên, các CDR được gắn vào vùng "khung", mà định hướng (các) CDR sao cho đạt được các tính chất liên kết kháng nguyên thích hợp của (các) CDR. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể can thiệp vào, phong bế, làm giảm hoặc điều biến tương tác giữa PCSK9 và LDLR. Các protein liên kết kháng nguyên này được biểu thị là "trung hòa". Theo một số phương án, liên kết giữa PCSK9 và LDLR có thể vẫn xảy ra, dù là protein liên kết kháng nguyên là trung hòa và liên kết với PCSK9. Ví dụ, theo một số phương án, ABP ngăn ngừa hoặc làm giảm ảnh hưởng bất lợi của PCSK9 đến LDLR mà không phong bế vị trí liên kết LDLR trên PCSK9. Do đó, theo một số phương án, ABP điều biến hoặc làm thay đổi khả năng của PCSK9 trong việc gây thoái biến LDLR, mà không cần phải ngăn chặn sự tương tác liên kết giữa PCSK9 và LDLR. Các ABP có thể được mô tả cụ thể là các ABP "trung hòa một cách không cạnh tranh". Theo một số phương án, ABP trung hòa liên kết với PCSK9 ở vị trí và/hoặc theo cách ngăn chặn PCSK9 liên kết với LDLR. Các ABP có thể được mô tả cụ thể là ABP "trung hòa một cách cạnh tranh". Cả hai chất trung hòa nêu trên có thể tạo ra lượng LDLR tự do nhiều hơn ở đối tượng, làm cho LDLR liên kết nhiều hơn với LDL (do đó làm giảm lượng LDL ở đối tượng). Điều này làm giảm lượng cholesterol trong huyết thanh có ở đối tượng.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế có khả năng ức chế hoạt tính được trung gian bởi PCSK9 (kể cả liên kết). Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với các biểu vị này ức chế, trong số những cái khác, các tương tác giữa PCSK9 và LDLR và các tác dụng sinh lý khác được trung gian bởi PCSK9. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên là của người, như các kháng thể đầy đủ của người đối với PCSK9.

Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác của PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết với dạng thành thục của PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết ở miền proprotein (pro domain) của PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết một cách chọn lọc với dạng thành thục của PCSK9. Theo

một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác theo cách sao cho PCSK9 không thể liên kết hoặc liên kết một cách không hiệu quả với LDLR. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên không liên kết với đầu tận cùng C của miền xúc tác. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên không liên kết với đầu tận cùng N của miền xúc tác. Theo một số phương án, ABP không liên kết với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của protein PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết với một biểu vị bất kỳ trong số các biểu vị được liên kết bởi các kháng thể được bàn luận đến trong bản mô tả này. Theo một số phương án, điều này có thể được xác định theo các thử nghiệm cạnh tranh giữa các kháng thể đã được bộc lộ trong bản mô tả này và các kháng thể khác. Theo một số phương án, ABP liên kết với biểu vị được liên kết bởi một trong số các kháng thể đã được bộc lộ trong bảng 2. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với trạng thái cấu hình cụ thể của PCSK9 để ngăn chặn PCSK9 tương tác với LDLR. Theo một số phương án, ABP liên kết với miền V của PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết với miền V của PCSK9 và ngăn chặn (hoặc làm giảm) PCSK9 liên kết với LDLR. Theo một số phương án, ABP liên kết với miền V của PCSK9, và khi nó không ngăn ngừa (hoặc làm giảm) liên kết của PCSK9 với LDLR, thì ABP ngăn ngừa hoặc làm giảm các hoạt tính bất lợi được trung gian thông qua PCSK9 trên LDLR.

Các protein liên kết kháng nguyên mà được bộc lộ trong bản mô tả này có nhiều ứng dụng. Một số protein liên kết kháng nguyên, ví dụ, có thể được dùng trong thử nghiệm liên kết đặc hiệu, sự tinh chế ái lực của PCSK9, cụ thể là PCSK9 của người hoặc các phối tử của nó và trong các thử nghiệm sàng lọc để xác định các chất đối kháng khác có hoạt tính PCSK9. Một số protein liên kết kháng nguyên là hữu dụng trong việc ức chế liên kết của PCSK9 với LDLR, hoặc ức chế các hoạt tính được trung gian bởi PCSK9.

Các protein liên kết kháng nguyên có thể được dùng trong nhiều ứng dụng điều trị, như được giải thích trong bản mô tả này. Ví dụ, theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên PCSK9 là hữu dụng đối với điều trị tình trạng bệnh liên quan đến PCSK9, như các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol

(hoặc "rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol trong huyết thanh") như chứng tăng cholesterol huyết, như được bộc lộ chi tiết hơn trong bản mô tả này. Các ứng dụng khác đối với các protein liên kết kháng nguyên bao gồm, ví dụ, chẩn đoán các bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý có liên quan đến PCSK9 và các thử nghiệm sàng lọc để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của PCSK9. Một số protein liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được dùng để điều trị các hậu quả, các triệu chứng, và/hoặc bệnh lý học liên quan đến hoạt tính của PCSK9.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên được đề xuất bao gồm một hoặc nhiều CDR (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6 CDR). Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên bao gồm (a) cấu trúc polypeptit và (b) một hoặc nhiều CDR mà được cài xen vào và/hoặc được kết hợp vào cấu trúc polypeptit. Cấu trúc polypeptit có thể có nhiều dạng khác nhau. Ví dụ, nó có thể là, hoặc bao gồm, khung của kháng thể có trong tự nhiên, hoặc đoạn hoặc biến thể của chúng, hoặc có thể có bản chất tổng hợp hoàn toàn. Các ví dụ về các cấu trúc polypeptit khác nhau được bộc lộ thêm dưới đây.

Theo các phương án nhất định, cấu trúc polypeptit của các protein liên kết kháng nguyên là kháng thể hoặc thu được từ kháng thể, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể đơn dòng, các kháng thể đặc hiệu kép, các thể mini, các kháng thể miền, các kháng thể tổng hợp (trong bản mô tả này đôi khi được gọi là "giả kháng thể"), các kháng thể khảm, các kháng thể được làm giống của người, các thể dung hợp kháng thể (đôi khi được gọi là "các thể tiếp hợp kháng thể"), và các phần hoặc các đoạn của chúng, một cách tương ứng. Trong một số trường hợp, protein liên kết kháng nguyên là đoạn miễn dịch của kháng thể (ví dụ, Fab, Fab', $F(ab')_2$, hoặc scFv). Các cấu trúc khác nhau được mô tả thêm và được xác định trong bản mô tả này.

Một số protein liên kết kháng nguyên nhất định theo sáng chế liên kết một cách đặc hiệu và/hoặc một cách chọn lọc với PCSK9 của người. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết một cách đặc hiệu và/hoặc một cách chọn lọc với protein PCSK9 của người có và/hoặc bao gồm các gốc từ 153 đến 692 nêu trong SEQ ID NO: 3. Theo một số phương án, ABP liên kết một cách

đặc hiệu và/hoặc một cách chọn lọc với PCSK9 của người có và/hoặc bao gồm các gốc từ 31 đến 152 nêu trong SEQ ID NO: 3. Theo một số phương án, ABP liên kết một cách chọn lọc với protein PCSK9 của người như được thể hiện trên Fig. 1A (SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết đặc hiệu với ít nhất một đoạn của protein PCSK9 và/hoặc protein PCSK9 có chiều dài đầy đủ, có hoặc không có trình tự tín hiệu.

Theo các phương án khi protein liên kết kháng nguyên được dùng cho các ứng dụng điều trị, protein liên kết kháng nguyên có thể ức chế, cản trở hoặc điều biến một hoặc nhiều hoạt tính sinh học của PCSK9. Theo một phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết một cách đặc hiệu với PCSK9 của người và/hoặc hầu như ức chế liên kết của PCSK9 của người với LDLR ít nhất là khoảng từ 20% đến 40%, từ 40% đến 60%, từ 60% đến 80%, từ 80% đến 85%, hoặc nhiều hơn (ví dụ, bằng cách đo mức độ liên kết theo thử nghiệm liên kết cạnh tranh *in vitro*). Một số protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế là kháng thể. Theo một số phương án, ABP có K_d thấp hơn (liên kết chắc hơn) 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12}, 10^{-13}M. Theo một số phương án, ABP có IC_{50} để phong bế liên kết của LDLR với PCSK9 (D374Y, biến thể có ái lực cao) thấp hơn 1 microM, từ 1000nM đến 100nM, từ 100nM đến 10nM, từ 10nM đến 1nM, từ 1000pM đến 500pM, từ 500pM đến 200pM, thấp hơn 200pM, từ 200pM đến 150pM, từ 200pM đến 100pM, từ 100pM đến 10pM, từ 10pM đến 1pM.

Một ví dụ về miền ổn định của chuỗi nặng IgG2 của kháng thể kháng PCSK9 theo sáng chế có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154, Fig. 3KK.

Một ví dụ về miền ổn định của chuỗi nặng IgG4 của kháng thể kháng PCSK9 theo sáng chế có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155, Fig. 3KK.

Một ví dụ về miền ổn định của chuỗi nhẹ kapa của kháng thể kháng PCSK9 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157, Fig. 3KK.

Một ví dụ về miền ổn định của chuỗi nhẹ lamda của kháng thể kháng PCSK9 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156, Fig. 3KK.

Các vùng thay đổi của các chuỗi của globulin miễn dịch thường thể hiện cùng cấu trúc tổng quát, chứa các vùng khung bảo toàn tương đối (FR) được kết

hợp bằng ba vùng siêu thay đổi, thường được gọi là "các vùng xác định bổ trợ" hoặc CDR. Các CDR từ hai chuỗi của mỗi cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ nêu trên thường được sắp hàng theo các vùng khung để tạo ra cấu trúc mà nó liên kết một cách đặc hiệu với biểu vị đặc hiệu trên protein đích (ví dụ, PCSK9). Từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C, các vùng thay đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có trong tự nhiên thường tuân theo trình tự gồm các yếu tố sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 và FR4. Hệ đánh số được đặt ra để đánh số các axit amin chiếm vị trí ở từng miền trong số các miền này. Hệ đánh số này được xác định trong: Kabat *Sequence of Proteins of Immunological Interest* (1987 và 1991, NIH, Bethesda, MD), hoặc Chothia & Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196:901-917; Chothia *et al.*, 1989, *Nature* 342:878-883.

Các vùng thay đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ khác nhau được bộc lộ theo sáng chế và thể hiện trên các Fig. 2A đến 3JJ và 3LL đến 3BBB. Theo một số phương án, mỗi vùng trong số các vùng thay đổi này có thể được gắn vào các vùng ổn định của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nêu trên để lần lượt tạo ra chuỗi nặng và chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của kháng thể. Ngoài ra, mỗi trình tự trong số các trình tự của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được tạo ra bằng cách đó có thể được kết hợp để tạo ra cấu trúc kháng thể trọn vẹn.

Các ví dụ cụ thể về một số vùng thay đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các kháng thể được đề xuất và các trình tự axit amin tương ứng của chúng được tổng kết trong Bảng 2.

Bảng 2: Các vùng thay đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được đưa ra làm ví dụ

Kháng thể	Vùng thay đổi của chuỗi nặng/chuỗi nhẹ SEQ ID NO
30A4	5/74
3C4	7/85
23B5	9/71
25G4	10/72

31H4	12/67
27B2	13/87
25A7	15/58
27H5	16/52
26H5	17/51
31D1	18/53
20D10	19/48
27E7	20/54
30B9	21/55
19H9	22/56
26E10	23/49
21B12	23/49
17C2	24/57
23G1	26/50
13H1	28/91
9C9	30/64
9H6	31/62
31A4	32/89
1A12	33/65
16F12	35/79
22E2	36/80
27A6	37/76
28B12	38/77
28D6	39/78
31G11	40/83
13B5	42/69
31B12	44/81
3B6	46/60
5H5	421/419
24F7	425/423
22B11	429/427
30F1	433/431
24B9.1	437/435
24B9.2	441/439
20A5.1	445/443
20A5.2	449/447
20E5.1	453/451
20E5.2	457/455
8A3	461/459
11F1	465/463
12H11	469/467
11H4	473/471
11H8	477/475
11G1	481/479

8A1	485/483

Ngoài ra, mỗi các chuỗi nặng thay đổi được đưa ra làm ví dụ liệt kê trong Bảng 2 có thể được kết hợp với chuỗi bất kỳ trong số các chuỗi nhẹ thay đổi được nêu làm ví dụ được thể hiện trong Bảng 2 để tạo ra kháng thể. Bảng 2 thể hiện việc ghép cặp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được nêu làm ví dụ được tìm thấy ở một vài kháng thể đã được bộc lộ trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, các kháng thể bao gồm ít nhất một chuỗi nặng thay đổi và một chuỗi nhẹ thay đổi trong số các chuỗi được liệt kê trong Bảng 2. Trong các trường hợp khác, các kháng thể chứa hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau và hai chuỗi nặng giống hệt nhau. Ví dụ, kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên có thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, hai chuỗi nặng, hoặc hai chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên chứa (và/hoặc bao gồm) 1, 2, và/hoặc 3 CDR của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ từ ít nhất một trong số các trình tự liệt kê trong Bảng 2 (CDR cho các trình tự này được thể hiện trên các Fig. 2A đến 3D, và các phương án khác trên các Fig. 3CCC đến 3JJJ và 15A đến 15D). Theo một số phương án, tất cả 6 CDR (CDR1-3 từ chuỗi nhẹ (CDRL1, CDRL2, CDRL3) và CDR1-3 từ chuỗi nặng (CDRH1, CDRH2, và CDRH3)) là một phần của ABP. Theo một số phương án, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc nhiều CDR được bao gồm trong ABP. Theo một số phương án, một CDR của chuỗi nặng và một CDR của chuỗi nhẹ trong số các CDR trong các trình tự trong Bảng 2 được đưa vào ABP (các CDR đối với các trình tự trong Bảng 2 được thể hiện trên các Fig. 2A đến 3D). Theo một số phương án, các phần bổ sung (ví dụ, như được thể hiện trên các Fig. 2A đến 2D, 3A đến 3D, và các phương án khác trên các Fig. 3CCC đến 3JJJ và 15A đến 15D) cũng được bao gồm trong ABP. Các ví dụ về các CDR và FR cho các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nêu trong Bảng 2 được thể hiện trên các Fig. 2A đến 3D (và các phương án khác trên các Fig. 3CCC đến 3JJJ và 15A đến 15D). Các trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ tùy ý (bao gồm CDR1, CDR2, CDR3, FR1, FR2, FR3, và FR4) có thể được chọn từ các trình tự sau: 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, 46, 421, 425, 429, 433, 437, 441, 445, 449, 453, 457, 461, 465, 469, 473, 477, 481, và 485. Các trình tự thay đổi của chuỗi nặng tùy

ý (bao gồm CDR1, CDR2, CDR3, FR1, FR2, FR3, và FR4) có thể được chọn từ các trình tự sau: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, 60, 419, 423, 427, 431, 435, 439, 443, 447, 451, 455, 459, 463, 467, 471, 475, 479, và 483. Trong một số các mục trên Fig. 2A đến 3D, các biến đổi ở các trình tự hoặc các ranh giới khác của các CDR và FR được xác định. Các lựa chọn khác này được xác định với "v1" sau tên ABP. Do hầu hết các lựa chọn khác này là không đáng kể trong tự nhiên, chỉ các đoạn có khác biệt được thể hiện trong bảng này. Cần phải hiểu được rằng đoạn còn lại của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng là giống như được thể hiện cho ABP nền trên các tấm khác. Do đó, ví dụ, 19H9v1 trên Fig. 2C có cùng FR1, CDR1, và FR2 như 19H9 trên Fig. 2A vì khác biệt duy nhất được thể hiện trên Fig. 2C. Đối với ba trong số các trình tự axit nucleic (ABP 26E10, 30B9, và 31B12), các trình tự axit nucleic thay thế bổ sung được thể hiện trên các Fig. này. Như các người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được, chỉ thực sự cần dùng không nhiều hơn một trình tự như vậy trong việc tạo ra kháng thể hoặc ABP. Thực vậy, theo một số phương án, chỉ cần có mặt một hoặc không có các axit nucleic của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ đặc hiệu.

Theo một số phương án, ABP được mã hóa bởi trình tự axit nucleic mà có thể mã hóa trình tự protein bất kỳ trong số các trình tự protein trong Bảng 2.

Theo một số phương án, ABP liên kết một cách chọn lọc với dạng của PCSK9 mà liên kết với LDLR (ví dụ, dạng tự được xúc tác của phân tử). Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên không liên kết với đầu tận cùng C của miền xúc tác (ví dụ, hầu hết axit amin 5. 5 đến 10, 10 đến 15, 15 đến 20, 20 đến 25, 25 đến 30, 30 đến 40 ở đầu tận cùng C). Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên không liên kết với đầu tận cùng N của miền xúc tác (ví dụ, hầu hết các axit amin 5. 5đến 10, 10 đến 15, 15 đến 20, 20 đến 25, 25 đến 30, 30 đến 40 ở đầu tận cùng N). Theo một số phương án, ABP liên kết với các axit amin trong số các axit amin từ 1 đến 100 của dạng thành thục của PCSK9. Theo một số phương án, ABP liên kết với các axit amin trong (và/hoặc các trình tự axit amin chứa) các axit amin 31 đến 100, 100 đến 200, 31 đến 152, 153 đến 692, 200 đến 300, 300

đến 400, 452 đến 683, 400 đến 500, 500 đến 600, 31 đến 692, 31 đến 449, và/hoặc 600 đến 692. Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác. Theo một số phương án, ABP trung hòa và/hoặc ABP không trung hòa liên kết với miền proprotein (pro domain). Theo một số phương án, ABP liên kết với cả miền xúc tác và miền proprotein (pro domain). Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác để cản trở diện tích trên miền xúc tác mà tương tác với miền proprotein (pro domain). Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác tại vị trí hoặc bề mặt mà miền proprotein (pro domain) tương tác với như nêu trong tài liệu của Piper và các đồng tác giả (*Structure* 15:1-8 (2007), mà được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn, bao gồm các phần thể hiện cấu trúc trong tài liệu đó). Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác và hạn chế tính lưu động của miền proprotein (pro domain). Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác mà không liên kết với miền proprotein (pro domain). Theo một số phương án, ABP liên kết với miền xúc tác, mà không liên kết với miền proprotein (pro domain), trong khi ngăn chặn miền proprotein (pro domain) định hướng lại để cho phép PCSK9 liên kết với LDLR. Theo một số phương án, ABP liên kết trong cùng biểu vị như các gốc xung quanh 149 đến 152 của miền proprotein (pro domain) theo tài liệu của Piper và các đồng tác giả. Theo một số phương án, ABP liên kết với rãnh (như đã nêu trong tài liệu của Piper và các đồng tác giả) trên miền V. Theo một số phương án, ABP liên kết với đốm giàu histiđin gần với rãnh trên miền V. Theo một số phương án, các kháng thể này (liên kết với miền V) là không trung hòa. Theo một số phương án, các kháng thể mà liên kết với miền V là trung hòa. Theo một số phương án, ABP trung hòa ngăn chặn liên kết của PCSK9 với LDLR. Theo một số phương án, các ABP trung hòa, khi ngăn chặn sự thoái biến PCSK9 của LDLR, thì không ngăn chặn liên kết của PCSK9 với LDLR (ví dụ, ABP 31A4). Theo một số phương án, ABP liên kết với hoặc phong bế ít nhất một trong số các histiđin được thể hiện trên Fig. 4 trong tài liệu của Piper và các đồng tác giả. Theo một số phương án, ABP phong bế bộ ba xúc tác trong PCSK9.

Theo một số phương án, kháng thể liên kết một cách chọn lọc với các protein PCSK9 biến thể, ví dụ, D374Y hơn là PCSK9 loại dại. Theo một số

phương án, các kháng thể này liên kết với biến thể ít nhất là mạnh gấp hai lần loại dại, và tốt hơn nếu mạnh gấp từ 2 đến 5, từ 5 đến 10, từ 10 đến 100, từ 100 đến 1000, từ 1000 đến 10.000 lần hoặc nhiều hơn với thể đột biến so với loại dại (như đo được thông qua K_d). Theo một số phương án, kháng thể ức chế một cách chọn lọc PCSK9 D374Y biến thể không tương tác với LDLR so với khả năng của PCSK9 loại dại tương tác với LDLR. Theo một số phương án, các kháng thể này phong bế khả năng của biến thể liên kết với LDLR mạnh hơn khả năng của loại dại, ví dụ, ít nhất là mạnh gấp hai lần loại dại, và tốt hơn nếu gấp từ 2 đến 5, từ 5 đến 10, từ 10 đến 100, từ 100 đến 1000 lần hoặc nhiều hơn với thể đột biến so với loại dại (như đo được thông qua IC_{50}). Theo một số phương án, kháng thể liên kết với và trung hòa cả PCSK9 loại dại và các dạng biến thể của PCSK9, như D374Y ở hàm lượng tương tự. Theo một số phương án, kháng thể liên kết với PCSK9 để ngăn chặn các biến thể của LDLR liên kết với PCSK9. Theo một số phương án, các biến thể của LDLR là đồng nhất ít nhất là 50% so với LDLR của người. Cần phải lưu ý rằng các biến thể của LDLR là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, Brown MS et al, "*Calcium cages, acid baths and recycling receptors*" *Nature* 388: 629-630, 1997). Theo một số phương án, ABP có thể nâng nồng độ của LDLR hữu hiệu trong chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử (trong đó có biến thể mất chức năng của LDLR).

Theo một số phương án, ABP liên kết với (mà không phong bế) các biến thể của PCSK9 mà là đồng nhất ít nhất là 50%, từ 50 đến 60, từ 60 đến 70, từ 70 đến 80, từ 80 đến 90, từ 90 đến 95, từ 95 đến 99 phần trăm, hoặc mức độ cao hơn so với dạng PCSK9 được thể hiện trên Fig. 1A và/hoặc Fig. 1B. Theo một số phương án, ABP liên kết với (mà không phong bế) các biến thể của PCSK9 mà là đồng nhất với mức độ ít nhất là 50%, từ 50 đến 60, từ 60 đến 70, từ 70 đến 80, từ 80 đến 90, từ 90 đến 95, từ 95 đến 99 phần trăm, hoặc mức độ đồng nhất theo phần trăm cao hơn so với dạng thành thục của PCSK9 được thể hiện trên Fig. 1A và/hoặc Fig. 1B. Theo một số phương án, ABP liên kết với và ngăn chặn các biến thể của PCSK9 mà là đồng nhất ít nhất là 50%, từ 50 đến 60, từ 60 đến 70, từ 70 đến 80, từ 80 đến 90, từ 90 đến 95, từ 95 đến 99 phần trăm, hoặc mức độ đồng nhất cao hơn

so với dạng của PCSK9 được thể hiện trên Fig. 1A và/hoặc Fig. 1B, tương tác với LDLR. Theo một số phương án, ABP liên kết với và ngăn chặn các biến thể của PCSK9 mà có mức độ đồng nhất theo phần trăm ít nhất là 50, từ 50 đến 60, từ 60 đến 70, từ 70 đến 80, từ 80 đến 90, từ 90 đến 95, từ 95 đến 99 phần trăm, hoặc cao hơn, so với dạng thành thục của PCSK9 được thể hiện trên Fig. 1B tương tác với LDLR. Theo một số phương án, biến thể của PCSK9 là biến thể của người, như các biến thể ở vị trí 474, E620G, và/hoặc E670G. Theo một số phương án, axit amin ở vị trí 474 là valin (như ở người khác) hoặc threonin (như ở khỉ đuôi dài và chuột nhắt). Với dữ liệu hoạt tính chéo đã thể hiện trong bản mô tả này, tin rằng các kháng thể này sẽ dễ dàng liên kết với các biến thể nêu trên.

Theo một số phương án, ABP liên kết với biểu vị được liên kết bởi một trong số các kháng thể đã được bộc lộ trong Bảng 2. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với trạng thái cấu hình cụ thể của PCSK9 để ngăn chặn PCSK9 tương tác với LDLR.

Các protein liên kết kháng nguyên đã được làm giống của người (ví dụ, các kháng thể)

Như được bộc lộ trong bản mô tả này, protein liên kết kháng nguyên với PCSK9 có thể chứa kháng thể được làm giống của người và/hoặc phần của chúng. Ứng dụng thực tế quan trọng của chiến dịch này là việc "làm giống như của người" đối với hệ miễn dịch thể dịch của chuột nhắt.

Theo các phương án nhất định, kháng thể được làm giống của người hầu như là không có tính sinh miễn dịch ở người. Theo các phương án nhất định, kháng thể được làm giống của người hầu như có cùng ái lực đối với đích như kháng thể của loài khác mà kháng thể đã được làm giống của người có nguồn gốc từ đó. Ví dụ, xem patent Mỹ số 5,530,101, patent Mỹ số 5,693,761; patent Mỹ số 5,693,762; patent Mỹ số 5,585,089.

Theo các phương án nhất định, các axit amin của miền thay đổi của kháng thể mà có thể được cải biến mà không làm giảm ái lực tự nhiên của miền liên kết

kháng nguyên trong khi làm giảm tính sinh miễn dịch của nó, được xác định. Ví dụ, xem: các patent Mỹ số 5,766,886 và 5,869,619.

Theo các phương án nhất định, việc cải biến kháng thể theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này thường được thiết kế để đạt được ái lực liên kết cao hơn đối với đích và/hoặc để làm giảm tính sinh miễn dịch của kháng thể ở người nhận. Theo các phương án nhất định, các kháng thể được làm giống của người được cải biến để loại bỏ vị trí glycosyl hóa để làm tăng ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên cùng gốc của nó. Ví dụ, xem: Co *et al.*, *Mol. Immunol.*, 30:1361-1367 (1993). Theo các phương án nhất định, các kỹ thuật như "tạo lại hình dạng", "siêu khảm hóa", hoặc "dán mặt/làm lại bề mặt" được sử dụng để tạo ra các kháng thể được làm giống của người. Ví dụ, xem: Vaswami *et al.*, *Annals of Allergy, Astham, & Immunol.* 81:105 (1998); Roguska *et al.*, *Prot. Engineer.*, 9:895-904 (1996); và patent Mỹ số 6,072,035. Theo một số phương án nhất định, các kỹ thuật này thường làm giảm tính sinh miễn dịch của kháng thế bằng cách làm giảm số lượng của các gốc lạ, mà không ngăn ngặn các đáp ứng kháng iđiotyp và kháng alotyp sau khi dùng lặp lại các kháng thể. Một số phương pháp nhất định khác làm giảm tính sinh miễn dịch được mô tả, ví dụ, trong: Gilliland *et al.*, *J. Immunol.*, 62(6): 3663-71 (1999).

Trong một số trường hợp nhất định, việc làm các kháng thể giống như của người dẫn đến hiện tượng mất khả năng liên kết kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, các kháng thể được làm giống của người "được đột biến ngược". Theo một số phương án nhất định này, kháng thể đã được làm giống của người được đột biến để bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin được tìm thấy ở kháng thể của người cho. Ví dụ, xem: Saldanha *et al.*, *Mol Immunol* 36:709-19 (1999).

Theo các phương án nhất định, các vùng xác định bổ trợ (CDR) của các vùng thay đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể với PCSK9 có thể được ghép vào các vùng khung (FR) từ cùng loài, hoặc khác loài. Theo các phương án nhất định, các CDR của các vùng thay đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể liên kết với PCSK9 có thể được ghép vào FR liên ứng của người. Để tạo ra các FR liên ứng của người, theo các phương án nhất định, FR từ một vài các trình tự

axit amin của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của người được sắp hàng để xác định trình tự liên ứng của axit amin. Theo các phương án nhất định, các FR này của kháng thể đối với chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của PCSK9 được thay thế bằng các FR từ chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ khác nhau. Theo các phương án nhất định, các axit amin hiếm ở các FR này của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể liên kết với PCSK9 không được thay thế, trong khi phần còn lại của các axit amin của FR được thay thế. Các axit amin hiếm là các axit amin đặc hiệu mà ở các vị trí thường không được tìm thấy trong FR. Theo các phương án nhất định, các vùng thay đổi đã ghép từ kháng thể liên kết với PCSK9 có thể được sử dụng với vùng ổn định mà là khác vùng ổn định của kháng thể liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, các vùng thay đổi đã ghép là một phần của kháng thể Fv chuỗi đơn. Việc ghép CDR được mô tả, ví dụ, trong các patent Mỹ số 6,180,370, 6,054,297, 5,693,762, 5,859,205, 5,693,761, 5,565,332, 5,585,089, và 5,530,101, và trong Jones *et al.*, *Nature*, 321: 522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature*, 332: 323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science*, 239:1534-1536 (1988), Winter, *FEBS Letts.*, 430:92-94 (1998), mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích.

Các protein liên kết kháng nguyên của người (ví dụ, các kháng thể)

Như được bộc lộ trong bản mô tả này, protein liên kết kháng nguyên mà liên kết với PCSK9 có thể chứa kháng thể của người (tức là, đầy đủ của người) và/hoặc phần của chúng. Theo các phương án nhất định, các trình tự nucleotit ghi mã, và các trình tự axit amin chứa, các phân tử globulin miễn dịch của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, đặc biệt là các trình tự tương ứng với các vùng thay đổi, được đề xuất. Theo các phương án nhất định, các trình tự tương ứng với các vùng xác định bổ trợ (CDR), đặc biệt là từ CDR1 đến CDR3, được đề xuất. Theo các phương án nhất định, dòng khối lai biểu hiện phân tử globulin miễn dịch này được đề xuất. Theo các phương án nhất định, dòng khối lai biểu hiện kháng thể đơn dòng như vậy được đề xuất. Theo các phương án nhất định, dòng khối lai được chọn từ ít nhất một trong số các dòng tế bào đã được bộc lộ trong Bảng 2, ví dụ, 21B12,

16F12 và 31H4. Theo các phương án nhất định, kháng thể đơn dòng tinh khiết của người liên kết với PCSK9 của người được đề xuất.

Có thể tạo ra chủng chuột nhắt thiếu hụt sản lượng kháng thể của chuột với các đoạn lớn chứa các locus Ig của người với dự đoạn rằng chuột nhắt đó sẽ tạo ra các kháng thể của người khi không có các kháng thể của chuột. Các đoạn Ig lớn của người có thể bảo toàn tính đa dạng gen thay đổi lớn cũng như điều chỉnh một cách thích hợp quá trình tạo ra và biểu hiện kháng thể. Bằng cách khai thác bộ máy của chuột nhắt để đa dạng hóa và chọn lọc và thiếu tính dung nạp miễn dịch đối với các protein của người, danh mục kháng thể của người được tái tạo lại ở các chủng chuột nhắt này có thể tạo ra các kháng thể của người có ái lực đầy đủ cao đối với kháng nguyên quan tâm bất kỳ, kể cả các kháng nguyên của người. Bằng cách áp dụng công nghệ lai tế bào, MAb của người đặc hiệu với kháng nguyên có tính đặc hiệu mong muốn có thể được tạo ra và được chọn. Một số phương pháp nhất định được đưa ra làm ví dụ được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 98/24893, patent Mỹ số 5,545,807, EP 546073, và EP 546073.

Theo các phương án nhất định, có thể sử dụng các vùng không đổi của loài khác với người cùng với (các) vùng thay đổi của người.

Khả năng tách dòng và khôi phục các locus của người có cỡ megabazơ trong nhiễm sắc thể nhân tạo của nấm men (YAC) và đưa chúng vào dòng mầm của chuột nhắt tạo ra hướng tiếp cận để làm sáng tỏ các thành phần chức năng của các locus đã được lập bản đồ rất rộng hoặc sơ sài cũng như tạo ra các mẫu hữu dụng về bệnh ở người. Ngoài ra, việc áp dụng công nghệ này để thay thế các locus của chuột nhắt bằng các thể tương đương chúng của người có thể đem lại hiểu biết sâu sắc hơn về sự biểu hiện và điều chỉnh các sản phẩm gen của người trong quá trình phát triển, liên lạc của chúng với các hệ thống khác, và sự tham gia của chúng vào quá trình gây bệnh và sự tiến triển của bệnh.

Các kháng thể của người tránh được một vài trong số các vấn đề liên quan đến các kháng thể mà vùng thay đổi và/hoặc vùng ổn định của chuột hoặc chuột thường gặp phải. Sự có mặt của các protein có nguồn gốc từ chuột hoặc chuột thường này có thể dẫn tới sự thanh thải nhanh của các kháng thể hoặc có thể dẫn

tới việc tạo ra đáp ứng miễn dịch chống lại kháng thể ở bệnh nhân. Để tránh sử dụng các kháng thể có nguồn gốc từ chuột hoặc chuột thường, các kháng thể đầy đủ của người có thể được tạo ra bằng cách đưa các locus chức năng của kháng thể của người vào động vật gặm nhấm, động vật có vú hoặc động vật khác sao cho động vật gặm nhấm, động vật có vú hoặc động vật khác này tạo ra các kháng thể đầy đủ của người.

Các kháng thể được làm giống của người là các kháng thể mà, trong khi ban đầu chứa các trình tự axit amin của kháng thể mà không là của người, thì đã có ít nhất một vài trong số các trình tự axit amin của kháng thể không phải của người được thay thế bằng các trình tự kháng thể của người. Điều này là ngược với các kháng thể của người, trong đó kháng thể này được ghi mã (hoặc có khả năng được mã hóa) bởi gen của người.

Các biến thể của protein liên kết kháng nguyên

Các kháng thể khác được đề xuất là các biến thể của ABP được liệt kê trên đây được tạo ra bằng cách kết hợp hoặc các phần phụ của chuỗi nặng thay đổi và chuỗi nhẹ thay đổi được thể hiện trong Bảng 2 và bao gồm chuỗi nhẹ thay đổi và/hoặc chuỗi nặng thay đổi mà mỗi chuỗi là đồng nhất có mức độ đồng nhất ít nhất là 50%, từ 50 đến 60, từ 60 đến 70, từ 70% đến 80%, từ 80% đến 85%, từ 85% đến 90%, từ 90% đến 95%, từ 95% đến 97%, từ 97% đến 99%, hoặc hơn 99% so với các trình tự axit amin của các trình tự trong Bảng 2 (toàn bộ trình tự hoặc một phần của trình tự, ví dụ, một hoặc nhiều CDR). Trong một số trường hợp, các kháng thể này bao gồm ít nhất một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ, trong khi trong các trường hợp khác các dạng biến thể chứa hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau và hai chuỗi nặng giống hệt nhau (hoặc các phần của chúng). Theo một số phương án, việc so sánh trình tự trên Fig. 2A đến 3D (và 13A đến 13J, các phương án khác trên các Fig. 15A đến 15D và Fig. 48A và Fig. 48B) có thể được dùng để xác định các phần của các kháng thể mà có thể được cải biến bằng cách quan sát các thay đổi mà ảnh hưởng đến liên kết và các thay đổi mà dường như không ảnh hưởng đến liên kết. Ví dụ, bằng cách so sánh các trình tự tương tự, có thể xác định các

đoạn (ví dụ, các axit amin cụ thể) mà có thể được cải biến và cách có thể được cải biến chúng trong khi vẫn duy trì (hoặc cải thiện) tính chức năng của ABP. Theo một số phương án, các biến thể của ABP bao gồm các nhóm và trình tự liên ứng mà được thể hiện trên các Fig. 13A, 13C, 13F, 13G, 13H, 13I, 13J, và/hoặc 48A và 48B và các thay đổi đã được chấp nhận ở vị trí đã được xác định là thay đổi trên các Fig. này. Các CDR được thể hiện trên các Fig. 13A, 13C, 13F, 13G, 48A và 48B được xác định dựa trên sự kết hợp lai của phương pháp Chothia (trên cơ sở vị trí của các vùng vòng cấu trúc, ví dụ xem: "*Standard conformations for the canonical strucstures of immunoglobulins*, Bissan Al-Lazikani, Arthur M. Lesk and Cyrus Chothia, *Journal of Molecular Biology*, 273(4): 927-948, 7 November (1997)) và phương pháp Kabat (trên cơ sở khả năng thay đổi của trình tự, ví dụ xem: *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242, Kabat et al., (1991)). Mỗi gốc xác định được theo một trong hai phương pháp này, được đưa vào danh mục cuối cùng của các gốc CDR (và được thể hiện trên các Fig. 13A, 13C, 13F, 13G, và 48A và 48B). Các CDR trên các Fig. 13H, 13I, và 13J thu được chỉ theo phương pháp Kabat. Trừ khi có quy định cụ thể khác, các trình tự liên ứng được xác định, các CDR, và FR trên các Fig. 13H đến 13J sẽ xác định và kiểm soát các CDR và FR đối với các ABP quy chiếu trên Fig. 13.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nặng chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự axit amin được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, và 60. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nặng chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 95% so với trình tự axit amin được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, và 60. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nặng chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất là ít nhất 99% so với trình tự axit amin

được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, và 60.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên chứa trình tự mà đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với một hoặc nhiều CDR trong số các CDR trong ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, và 60. Theo một số phương án, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 CDR (mỗi trình tự đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với các trình tự nêu trên) có mặt.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên chứa trình tự mà đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với một hoặc nhiều FR trong số các FR trong ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 74, 85, 71, 72, 67, 87, 58, 52, 51, 53, 48, 54, 55, 56, 49, 57, 50, 91, 64, 62, 89, 65, 79, 80, 76, 77, 78, 83, 69, 81, và 60. Theo một số phương án, 1, 2, 3, hoặc 4 FR (mỗi trình tự đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với các trình tự nêu trên) có mặt.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự axit amin được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, và 46. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 95% so với trình tự axit amin được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, và 46. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ chứa vùng thay đổi chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 99% so với trình tự axit amin được chọn từ ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 7, 9, 10,

12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, và 46.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên chứa trình tự mà đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95 đến 99% so với một hoặc nhiều CDR trong số các CDR trong ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, và 46. Theo một số phương án, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 CDR (mỗi trình tự đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với các trình tự nêu trên) có mặt.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên chứa trình tự mà đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với một hoặc nhiều FR trong số các FR trong ít nhất một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 44, và 46. Theo một số phương án, 1, 2, 3, hoặc 4 FR (mỗi trình tự đồng nhất ít nhất là 90%, từ 90% đến 95%, và/hoặc từ 95% đến 99% so với các trình tự nêu trên) có mặt.

Dựa vào phần bộc lộ nêu trên, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định các biến thể thích hợp của ABP như nêu trong bản mô tả này bằng cách áp dụng các kỹ thuật đã biết. Theo các phương án nhất định, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định vùng thích hợp của phân tử mà có thể được thay đổi mà không làm mất hoạt tính bằng cách hướng đích các vùng được cho là không quan trọng đối với hoạt tính. Theo các phương án nhất định, có thể xác định các gốc và phần của các phân tử mà được bảo toàn trong số các polypeptit tương tự. Theo các phương án nhất định, ngay cả các vùng mà có thể là quan trọng đối với hoạt tính sinh học hoặc đối với cấu trúc có thể được thay thế axit amin bảo toàn mà không làm mất hoạt tính sinh học hoặc không ảnh hưởng bất lợi đến cấu trúc polypeptit.

Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể xem xét các thử nghiệm về cấu trúc-chức năng xác định các gốc trong các polypeptit tương tự là quan trọng đối với hoạt tính hoặc cấu trúc. Nhờ có sự so sánh này, có

thể dự đoán tầm quan trọng của các gốc axit amin trong protein mà tương ứng với các gốc axit amin mà là quan trọng đối với hoạt tính hoặc cấu trúc trong các protein tương tự. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể lựa chọn các gốc thay thế axit amin tương tự về mặt hóa học cho các gốc axit amin quan trọng đã được dự đoán này.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này còn có thể phân tích cấu trúc ba chiều và trình tự axit amin liên quan đến cấu trúc đó ở các ABP tương tự. Dựa trên thông tin này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể dự đoán sự sắp hàng các gốc axit amin của kháng thể theo cấu trúc ba chiều của nó. Theo các phương án nhất định, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể lựa chọn để không tạo ra các thay đổi cơ bản đối với các gốc axit amin đã được dự đoán là ở trên bề mặt của protein này, vì các gốc này có thể tham gia vào các tương tác quan trọng với các phân tử khác. Hơn thế nữa, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể tạo ra các biến thể thử nghiệm chứa một gốc thay thế axit amin tại mỗi gốc axit amin mong muốn. Sau đó, các biến thể có thể được sàng lọc bằng cách sử dụng các thử nghiệm hoạt tính đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Các biến thể này có thể được sử dụng để thu thập thông tin về các biến thể thích hợp. Ví dụ, nếu phát hiện ra rằng sự thay đổi đối với gốc axit amin cụ thể làm cho hoạt tính không thích hợp, bị giảm một cách không mong muốn hoặc bị mất, thì các biến thể với thay đổi đó có thể được tránh. Nói cách khác, trên cơ sở thông tin thu thập được từ các thử nghiệm thông thường này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng xác định các axit amin mà cần các gốc thay thế khác nên được tránh một cách riêng rẽ hoặc kết hợp với các đột biến khác.

Nhiều công bố khoa học đã được đóng góp để dự đoán về cấu trúc bậc hai. Xem: Moult J., *Curr. Op. in Biotech.*, 7(4):422-427 (1996), Chou *et al., Biochemistry*, 13(2):222-245 (1974); Chou *et al., Biochemistry*, 113(2):211-222 (1974); Chou *et al.*, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 47:45-148 (1978); Chou *et al.*, *Ann. Rev. Biochem.*, 47:251-276 và Chou *et al.*, *Biophys. J.*, 26:367-384 (1979). Hơn thế nữa, hiện có các chương trình máy tính hỗ trợ việc dự đoán

cấu trúc bậc hai. Một phương pháp dự đoán cấu trúc bậc hai là dựa trên việc dựng mẫu tương đồng. Ví dụ, hai polypeptit hoặc protein mà có mức độ đồng nhất trình tự cao hơn 30%, hoặc mức độ tương tự cao hơn 40% thường có cấu trúc liên kết tương tự. Sự phát triển gần đây về cơ sở dữ liệu cấu trúc protein (PDB) đã mang lại khả năng dự đoán cấu trúc bậc hai tốt hơn, bao gồm cả khả năng về số lần gấp nếp tiềm năng trong cấu trúc polypeptit hoặc cấu trúc protein. Xem: Holm *et al.*, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1):244-247 (1999). Đã có gợi ý (Brenner *et al., Curr. Op. Struct. Biol.*, 7(3):369-376 (1997)) rằng số lần gấp nếp giới hạn trong polypeptit hoặc protein nhất định và rằng ngay khi số lượng các cấu trúc tới hạn được phân giải, thì việc dự đoán cấu trúc sẽ trở nên chính xác hơn nhiều.

Các phương pháp khác nữa để dự đoán cấu trúc bậc hai bao gồm "xâu chuỗi" (Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3):377-87 (1997); Sippl *et al.*, *Structure*, 4(1):15-19 (1996)), "phân tích profin" (Bowie *et al.*, *Science*, 253:164-170 (1991); Gribskov *et al.*, *Meth. Enzym.*, 183:146-159 (1990); Gribskov *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 84(13):4355-4358 (1987)), và "liên kết tiến triển" (xem tài liệu của Holm, *nêu trên* (1999), và tài liệu của Brenner, *nêu trên* (1997)).

Theo các phương án nhất định, các biến thể của protein liên kết kháng nguyên bao gồm biến thể glycosyl hóa, trong đó số và/hoặc loại vị trí glycosyl hóa đã thay đổi so với các trình tự axit amin của polypeptit gốc. Theo các phương án nhất định, các biến thể protein bao gồm số vị trí glycosyl hóa được liên kết N nhiều hơn hoặc ít hơn so với protein tự nhiên. Vị trí glycosyl hóa được liên kết N được đặc trưng bởi trình tự: Asn-X-Ser hoặc Asn-X-Thr, trong đó gốc axit amin X có thể là gốc axit amin bất kỳ trừ prolin. Việc thay thế các gốc axit amin để tạo ra trình tự này tạo ra vị trí tiềm năng mới để bổ sung mạch hyđrat cacbon được liên kết N vào. Theo cách khác, các gốc thay thế mà loại trừ trình tự này sẽ loại bỏ mạch hyđrat cacbon được liên kết N đang có. Sáng chế còn đề xuất việc bố trí lại các mạch hyđrat cacbon được liên kết N, trong đó một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa được liên kết N (thường là các vị trí có trong tự nhiên) bị loại bỏ và một hoặc nhiều vị trí được liên kết N mới được tạo ra. Các biến thể kháng thể được ưu tiên bổ sung bao gồm các biến thể xystein, trong đó một hoặc nhiều gốc xystein được

xóa bỏ khỏi hoặc được thay thế cho một axit amin khác (ví dụ, serin) so với trình tự axit amin gốc. Các biến thể xystein có thể là hữu dụng khi các kháng thể phải được gấp nếp lại thành cấu hình có hoạt tính sinh học như sau khi phân lập các thể vùi không hòa tan. Các biến thể xystein thường có ít gốc xystein hơn protein tự nhiên, và thường có số chẵn để giảm thiểu các tương tác tạo ra từ các xystein không được ghép cặp.

Theo một số phương án nhất định, các gốc thay thế axit amin là các gốc thay thế mà: (1) làm giảm tính nhạy đối với sự phân giải protein, (2) làm giảm tính nhạy đối với sự oxy hóa, (3) làm thay đổi ái lực liên kết để tạo ra các phức protein, (4) làm thay đổi ái lực liên kết, và/hoặc (4) mang lại hoặc cải biến các tính chất hóa lý hoặc tính chất chức năng khác trên các polypeptit này. Theo một số phương án nhất định, một hoặc nhiều gốc thay thế axit amin (theo các phương án nhất định, các gốc thay thế axit amin bảo toàn) có thể được tạo ra ở trình tự xuất hiện trong tự nhiên (theo các phương án nhất định, ở phần polypeptit ngoài (các) miền tạo ra các tiếp xúc liên phân tử). Theo các phương án nhất định, gốc thay thế axit amin bảo toàn thường có thể không làm thay đổi cơ bản các đặc tính cấu trúc của trình tự gốc (ví dụ, axit amin thay thế không có xu hướng làm gãy vòng xoắn xảy ra ở trình tự gốc, hoặc phá vỡ các loại khác cấu trúc bậc hai đặc trưng cho trình tự gốc). Các ví dụ về cấu trúc polypeptit bậc hai và bậc ba đã được nhận diện trong lĩnh vực kỹ thuật này được bộc lộ trong: *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden & J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); và Thornton *et al.*, *Nature*, 354:105 (1991), mà từng tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, các biến thể là biến thể của các trình tự axit nucleic của ABP đã được bộc lộ trong bản mô tả này. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được rằng phần bàn luận trên đây có thể được dùng để xác định, đánh giá, và/hoặc tạo ra các biến thể protein ABP và cho cả các trình tự axit nucleic mà có thể mã hóa đối với các biến thể protein này. Do đó, các trình tự axit nucleic ghi mã cho các biến thể protein (cũng như các trình tự axit nucleic ghi mã

ABP trong Bảng 2, nhưng khác các trình tự đã được bộc lộ rõ ràng trong bản mô tả này) được dự tính đến theo sáng chế này. Ví dụ, biến thể ABP có thể có độ đồng nhất ít nhất là 80%, từ 80% đến 85%, từ 85% đến 90%, từ 90% đến 95%, từ 95% đến 97%, từ 97% đến 99% hoặc cao hơn so với ít nhất một trình tự axit nucleic trình tự đã được nêu trong SEQ ID NO: 152, 153, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151 hoặc ít nhất là từ một đến sáu (và các tổ hợp khác nhau của chúng) (các) CDR được ghi mã bởi các trình tự axit nucleic nêu trong SEQ ID NO: 152, 153, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, và 151.

Theo một số phương án, kháng thể (hoặc trình tự axit nucleic ghi mã nó) là biến thể nếu trình tự axit nucleic mà ghi mã ABP cụ thể (hoặc chính trình tự axit nucleic đó) có thể lai một cách chọn lọc với trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic ghi mã các protein trong Bảng 2 (như, nhưng không chỉ giới hạn ở SEQ ID NO: 152, 153, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, và 151) trong các điều kiện nghiêm ngặt. Theo một phương án, các điều kiện nghiêm ngặt vừa phải thích hợp bao gồm bước rửa sơ bộ trong dung dịch chứa 5XSSC; 0,5% SDS, 1,0mM EDTA (độ pH=8:0); lai ở 50°C, -65°C, 5xSSC, qua đêm hoặc, trong trường hợp tương đồng chéo loài, ở 45°C bằng 0,5xSSC; tiếp theo là rửa hai lần ở 65°C trong 20 phút mỗi lần bằng 2x, 0,5x và 0,2xSSC chứa 0,1% SDS. Các trình tự ADN lai này cũng nằm trong phạm vi sáng chế, là các trình tự nucleotit mà, do thoái biến mã, ghi mã polypeptit của kháng thể mà được ghi mã bởi trình tự ADN lai và các trình tự axit amin mà được mã hóa bởi các trình tự axit nucleic này. Theo

một số phương án, các biến thể của CDR bao gồm các trình tự axit nucleic và các trình tự axit amin được ghi mã bởi các trình tự mà lai với một hoặc nhiều CDR trong các trình tự nêu trên (từng CDR có thể dễ dàng được xác định có dựa vào các Fig. 2A đến 3D, và các phương án khác trên các Fig. 3CCC đến 3JJJ và 15A đến 15D). Thuật ngữ "lai một cách chọn lọc" được dùng trong ngữ cảnh này có nghĩa là liên kết ở mức độ phát hiện được và một cách chọn lọc. Các polynucleotit, các oligonucleotit và các đoạn của chúng theo sáng chế lai một cách chọn lọc với các sợi axit nucleic trong các điều kiện lai và rửa mà làm giảm thiểu các lượng có thể đánh giá được của liên kết có thể phát hiện với các axit nucleic không đặc hiệu. Các điều kiện rất nghiêm ngặt có thể được dùng để đạt được các điều kiện lai chọn lọc như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được bàn luận đến trong bản mô tả này. Nói chung, mức độ tương đồng về trình tự axit nucleic giữa các polynucleotit, các oligonucleotit, và các đoạn theo sáng chế và trình tự axit nucleic quan tâm ít nhất là 80%, và cao hơn thường với mức độ tương đồng tăng một cách ưu tiên ít nhất là 85%, 90%, 95%, 99%, và 100%. Hai trình tự axit amin là tương đồng nếu trình tự của chúng là đồng nhất một phần hoặc hoàn toàn. Ví dụ, mức tương đồng 85% có nghĩa là 85% axit amin là giống hệt nhau nếu hai trình tự này được sắp hàng để bắt cặp tối đa. Khoảng trống (ở một trong hai trình tự được bắt cặp) được cho phép nhằm bắt cặp tối đa; chiều dài khoảng trống bằng 5 hoặc ngắn hơn được ưu tiên, trong đó 2 hoặc ngắn hơn được ưu tiên hơn. Theo cách khác và tốt hơn, nếu hai trình tự protein (hoặc các trình tự polypeptit thu được từ hai trình tự này có chiều dài ít nhất bằng 30 axit amin) là tương đồng, như thuật ngữ này được dùng trong bản mô tả này, nếu chúng có điểm sắp hàng lớn hơn 5 (theo các đơn vị lệch chuẩn) bằng cách sử dụng chương trình ALIGN với ma trận dữ liệu đột biến và điểm phạt khoảng trống bằng 6 hoặc cao hơn. Xem: Dayhoff, M. O., trong *Atlas of Protein Sequence and Structure*, pp. 101-110 (Volume 5, *National Biomedical Research Foundation* (1972)) và Phụ lục 2 cho tập này, trang 1 đến 10. Tốt hơn nữa, hai trình tự hoặc các phần của chúng là tương đồng nếu các axit amin của chúng là đồng nhất hơn hoặc bằng 50% nếu được sắp hàng một cách tối ưu bằng cách sử dụng chương trình ALIGN. Thuật ngữ "tương ứng với" được dùng trong

bản mô tả này có nghĩa là trình tự polynucleotit đó là tương đồng (tức là là đồng nhất, không hẳn là có liên quan về mặt tiến triển) với toàn bộ hoặc một phần của trình tự polynucleotit quy chiếu, hoặc trình tự polypeptit đó là đồng nhất với trình tự polypeptit quy chiếu. Trái lại, thuật ngữ "bổ trợ cho" được dùng trong bản mô tả này có nghĩa là trình tự bổ trợ là đồng nhất với toàn bộ hoặc một phần của trình tự polynucleotit quy chiếu. Để minh họa, trình tự nucleotit "TATAC" tương ứng với trình tự quy chiếu "TATAC" và bổ trợ cho trình tự quy chiếu "GTATA".

Chuẩn bị các protein liên kết kháng nguyên (ví dụ, các kháng thể)

Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên (như các kháng thể) được tạo ra bằng cách gây miễn dịch bằng kháng nguyên (ví dụ, PCSK9). Theo các phương án nhất định, các kháng thể có thể được tạo ra bằng cách gây miễn dịch bằng PCSK9 có chiều dài đầy đủ, dạng hòa tan của PCSK9, chỉ riêng miền xúc tác, dạng thành thục của PCSK9 được thể hiện trên Fig. 1A, dạng biến thể ghép nối của PCSK9, hoặc đoạn của nó. Theo các phương án nhất định, các kháng thể theo sáng chế có thể là đa dòng hoặc đơn dòng, và/hoặc có thể là các kháng thể tái tổ hợp. Theo các phương án nhất định, các kháng thể theo sáng chế là các kháng thể của người được chuẩn bị, ví dụ, bằng cách gây miễn dịch động vật chuyển gen có khả năng tạo ra các kháng thể của người (xem, ví dụ, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 93/12227).

Theo các phương án nhất định, một số phương pháp có thể được áp dụng để xử lý các tính chất vốn có của kháng thể, như ái lực của kháng thể đối với đích của nó. Các phương pháp này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc sử dụng sự phát sinh đột biến đặc hiệu điểm hoặc ngẫu nhiên đối với phân tử polynucleotit ghi mã kháng thể để tạo ra biến thể của kháng thể. Theo các phương án nhất định, việc tạo ra này được tiếp tục bằng bước sàng lọc các biến thể của kháng thể mà thể hiện thay đổi mong muốn, ví dụ, ái lực tăng hoặc ái lực giảm.

Theo các phương án nhất định, các gốc axit amin được hướng đích trong các phương pháp gây đột biến là các axit amin trong CDR. Theo các phương án nhất định, các axit amin trong các vùng khung của các miền thay đổi được hướng

đích. Theo các phương án nhất định, đã thấy rằng các vùng khung này góp phần vào các tính chất liên kết hướng đích của các kháng thể nhất định. Ví dụ, xem: Hudson, *Curr. Opin. Biotech.*, 9:395-402 (1999) và các tài liệu viện dẫn trong đó.

Theo các phương án nhất định, thư viện đã sàng lọc nhỏ hơn và hiệu quả hơn gồm các biến thể của kháng thể được tạo ra bằng cách giới hạn sự phát sinh đột biến ngẫu nhiên hoặc được định hướng điểm đến các vị trí siêu đột biến trong các CDR, mà là các vị trí tương ứng với diện tích có xu hướng đột biến trong quá trình thành thục ái lực sinh dưỡng. Ví dụ, xem: Chowdhury & Pastan, *Nature Biotech.*, 17: 568-572 (1999) và các tài liệu viện dẫn trong đó. Theo các phương án nhất định, một số loại yếu tố ADN có thể được dùng để xác định các vị trí siêu đột biến gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đoạn lặp lại trực tiếp và lặp lại ngược nhất định, các trình tự liên ứng nhất định, các cấu trúc bậc hai nhất định, và các đoạn gập đôi nhất định. Ví dụ, các yếu tố ADN này mà có thể được dùng để xác định các vị trí siêu đột biến gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, trình tự bốn bazơ chứa purin (A hoặc G), tiếp theo là guainin (G), tiếp theo là pyrimiđin (C hoặc T), tiếp theo là ađenosin hoặc thymiđin (A hoặc T) (tức là A/G-G-C/T-A/T). Một ví dụ khác về yếu tố ADN mà có thể được dùng để xác định các vị trí siêu đột biến là codon serin, A-G-C/T.

Chuẩn bị ABP đầy đủ của người (ví dụ, các kháng thể)

Theo các phương án nhất định, kỹ thuật biểu hiện thể thực khuẩn được dùng để tạo ra các kháng thể đơn dòng. Theo các phương án nhất định, các kỹ thuật này tạo ra các kháng thể đơn dòng đầy đủ của người. Theo các phương án nhất định, polynucleotit ghi mã một đoạn kháng thể Fab hoặc Fv được biểu hiện trên bề mặt của thể thực khuẩn. Ví dụ, xem: Hoogenboom *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 227: 381 (1991); Marks *et al.*, *J Mol Biol* 222: 581 (1991); Patent Mỹ số 5,885,793. Theo các phương án nhất định, thể thực khuẩn được "sàng lọc" để xác định các đoạn kháng thể có ái lực đối với đích. Do đó, một số quy trình này bắt chước việc chọn lọc miễn dịch thông qua việc biểu hiện danh mục đoạn kháng thể trên bề mặt của thể thực khuẩn hình sợi chỉ, và tiếp đó chọn lọc thể thực khuẩn theo liên kết của

chúng với đích. Theo các quy trình này, các đoạn kháng thể trung hòa có chức năng ái lực cao được phân lập. Theo các phương án này (được bàn luận chi tiết hơn dưới đây), danh mục hoàn chỉnh gồm các gen kháng thể của người được tạo ra bằng cách tách dòng gen V của người đã được bố trí lại một cách tự nhiên từ các tế bào bạch huyết máu ngoại biên. Ví dụ, xem: Mullinax *et al., Proc Natl Acad Sci (USA)*, 87: 8095-8099 (1990).

Theo một số phương án nhất định, các kháng thể theo sáng chế được điều chế nhờ sử dụng chuột nhắt biến đổi gen mà có phần đáng kể của hệ gen tạo ra kháng thể của người được cài xen vào mà nó gây ra thiếu hụt sản lượng các kháng thể nội sinh của chuột. Tiếp đó, chuột nhắt có khả năng tạo ra các phân tử globulin miễn dịch và các kháng thể của người và thiếu hụt sản lượng các phân tử globulin miễn dịch và các kháng thể của chuột. Các kỹ thuật được áp dụng để đạt được kết quả này được bộc lộ trong các patent, các đơn yêu cầu cấp patent và các tài liệu viện dẫn đã bộc lộ trong bản mô tả này. Theo các phương án nhất định, có thể áp dụng các phương pháp như đã bộc lộ trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 98/24893 hoặc trong Mendez *et al.*, *Nature Genetics*, 15:146-156 (1997), mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích.

Nói chung, các ABP đơn dòng đầy đủ của người (ví dụ, các kháng thể) đặc hiệu đối với PCSK9 có thể được tạo ra như sau. Chuột nhắt chuyển gen chứa các gen globulin miễn dịch của người được gây miễn dịch bằng kháng nguyên quan tâm, ví dụ PCSK9, các tế bào bạch huyết (như các tế bào B) của chuột nhắt mà biểu hiện các kháng thể thu được. Các tế bào thu được này được dung hợp với dòng tế bào dạng tủy để tạo ra dòng khối lai bất tử, và các dòng khối lai này được sàng lọc và được chọn để xác định các dòng khối lai mà tạo ra các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên quan tâm. Theo các phương án nhất định, việc tạo ra dòng khối lai mà tạo ra các kháng thể đặc hiệu với PCSK9 được đề xuất.

Theo các phương án nhất định, các kháng thể đầy đủ của người được tạo ra bằng cách cho các tế bào lá lách của người (các tế bào B hoặc T) tiếp xúc với kháng nguyên *in vitro*, và sau đó khôi phục các tế bào đã tiếp xúc này trong chuột nhắt được làm suy yếu về mặt miễn dịch, ví dụ, SCID hoặc nod/SCID. Ví dụ, xem:

Brams *et al., J.Immunol.* 160: 2051-2058 (1998); Carballido *et al., Nat. Med.*, 6: 103-106 (2000). Theo một số hướng nhất định, việc ghép mô phôi người vào chuột nhắt SCID (SCID-hu) dẫn đến sự sinh huyết kéo dài và phát triển tế bào T của người. Ví dụ, xem: McCune *et al.*, *Science*, 241:1532-1639 (1988); Ifversen *et al.*, *Sem. Immunol.*, 8:243-248 (1996). Trong một số trường hợp nhất định, đáp ứng miễn dịch thể dịch ở chuột nhắt khảm này phụ thuộc vào sự phát triển đồng thời của các tế bào T của người trong động vật. Ví dụ, xem: Martensson *et al.*, *Immunol.*, 83:1271-179 (1994). Theo một số hướng nhất định, các tế bào bạch huyết máu ngoại biên của người được cấy ghép vào chuột nhắt SCID. Ví dụ, xem: Mosier *et al.*, *Nature*, 335:256-259 (1988). Theo một số phương án nhất định, khi các tế bào ghép này được xử lý bằng tác nhân mồi, như Staphylococcal Enterotoxin A (SEA), hoặc bằng các kháng thể đơn dòng kháng CD40 của người, phát hiện được sản lượng tế bào B cao. Ví dụ, xem: Martensson *et al., Immunol.*, 84: 224-230 (1995); Murphy *et al.*, *Blood*, 86:1946-1953 (1995).

Do đó, theo các phương án nhất định, các kháng thể đầy đủ của người có thể được tạo ra bằng sự biểu hiện ADN tái tổ hợp ở các tế bào chủ hoặc bằng sự biểu hiện trong các khối lai. Theo các phương án khác, các kháng thể có thể được tạo ra bằng cách áp dụng các kỹ thuật biểu hiện thể thực khuẩn được bộc lộ trong bản mô tả này.

Các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này được tạo ra bằng cách áp dụng kỹ thuật XenoMouse®, như được bộc lộ trong bản mô tả này. Sau đó, chuột nhắt có khả năng tạo ra các phân tử globulin miễn dịch và kháng thể của người và thiếu hụt sản lượng các phân tử globulin miễn dịch và kháng thể của chuột. Các kỹ thuật được áp dụng để đạt được mục đích này được bộc lộ trong các patent, các đơn yêu cầu cấp patent, và các tài liệu viện dẫn đã bộc lộ trong phần tình trạng kỹ thuật của sáng chế. Tuy nhiên, phương án được ưu tiên về việc tạo ra chuột nhắt chuyển gen và các kháng thể từ đó đã được bộc lộ trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 08/759,620, nộp ngày 3 tháng 12 năm 1996 và công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 98/24893, công bố ngày 11 tháng 6 năm 1998 và WO 00/76310, công bố ngày 21 tháng 12 năm 2000, nội dung của chúng được đưa vào đây bằng cách viện

dẫn. Xem cả Mendez *et al.*, *Nature Genetics*, 15:146-156 (1997), toàn bộ nội dung của nó được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Bằng cách áp dụng công nghệ này, các kháng thể đơn dòng đầy đủ của người đối với nhiều loại kháng nguyên đã được tạo ra. Về cơ bản, dòng chuột nhắt XenoMouse® được gây miễn dịch bằng kháng nguyên quan tâm (ví dụ, PCSK9), các tế bào bạch huyết (như các tế bào B) được thu hồi từ chuột nhắt siêu miễn dịch, và các tế bào bạch huyết thu được được dung hợp với dòng tế bào kiểu tủy để tạo ra dòng khối lai bất tử. Các dòng khối lai này được sàng lọc và được chọn để xác định các dòng khối lai mà tạo ra các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên quan tâm. Sáng chế còn đề xuất các phương pháp sản xuất nhiều dòng khối lai mà tạo ra các kháng thể đặc hiệu với PCSK9. Ngoài ra, sáng chế còn cung cấp đặc tính của các kháng thể được tạo ra bởi dòng tế bào này, bao gồm các phân tích trình tự nucleotit và axit amin của các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ của các kháng thể này.

Việc tạo ra chủng chuột nhắt XenoMouse® được bàn luận chi tiết hơn và được bộc lộ trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 07/466,008, nộp ngày 12 tháng 1 năm 1990, đơn số 07/610,515, nộp ngày 8 tháng 11 năm 1990, đơn số 07/919,297, nộp ngày 24 tháng 7 năm 1992, đơn số 07/922,649, nộp ngày 30 tháng 7 năm 1992, đơn số 08/031,801, nộp ngày 15 tháng 3 năm 1993, đơn số 08/112,848, nộp 27 tháng 8 năm 1993, đơn số 08/234,145, nộp ngày 28 tháng 4 năm 1994, đơn số 08/376,279, nộp ngày 20 tháng 1 năm 1995, đơn số 08/430, 938, nộp ngày 27 tháng 4 năm 1995, đơn số 08/464,584, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/464,582, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/463,191, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/462,837, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/486,853, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/486,857, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/486,859, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/462,513, nộp ngày 5 tháng 6 năm 1995, đơn số 08/724,752, nộp ngày 2 tháng 10 năm 1996, đơn số 08/759,620, nộp ngày 3 tháng 12 năm 1996, công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2003/0093820, nộp ngày 30 tháng 11 năm 2001 và các patent Mỹ số 6,162,963, 6,150,584, 6,114,598, 6,075,181, và 5,939,598 và các patent Nhật bản số 3 068 180 B2, 3 068 506 B2, và 3 068 507 B2. Xem cả patent Châu Âu số EP 0 463 151

B1, đã được công bố cấp ngày 12 tháng 6 năm 1996, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 94/02602, công bố ngày 3 tháng 2 năm 1994, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 96/34096, công bố ngày 31 tháng 10 năm 1996, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 98/24893, công bố ngày 11 tháng 6 năm 1998, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 00/76310, công bố ngày 21 tháng 12 năm 2000. Nội dung của tất cả các patent, đơn yêu cầu cấp patent, và các tài liệu viện dẫn nêu trên được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo cách khác, các tổ chức khác, bao gồm GenPharm International, Inc., đã áp dụng phương pháp "locus mini". Theo phương pháp locus mini, locus Ig ngoại sinh được bắt chước thông qua việc đưa vào các mẩu (từng gen) từ locus Ig. Do đó, một hoặc nhiều gen V_H, một hoặc nhiều gen D_H, một hoặc nhiều gen J_H, vùng ổn định mu, và thường cả vùng ổn định thứ hai (tốt hơn là vùng ổn định gama) được tạo ra trong một cấu trúc để cài xen vào động vật. Cách này được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,545,807 cấp cho Surani và các đồng tác giả và các patent Mỹ số 5,545,806, 5,625,825, 5,625,126, 5,633,425, 5,661,016, 5,770,429, 5,789,650, 5,814,318, 5,877,397, 5,874,299, và 6,255,458 đều cấp cho Lonberg & Kay, patent Mỹ số 5,591,669 và 6,023,010 cấp cho Krimpenfort & Berns, các patent Mỹ số 5,612,205, 5,721,367, và 5,789,215 cấp cho Berns và các đồng tác giả, và patent Mỹ số 5,643,763 cấp cho Choi & Dunn, và các đơn yêu cầu cấp patent Mỹ của GenPharm International số 07/574,748, nộp ngày 29 tháng 8 năm 1990, đơn số 07/575,962, nộp ngày 31 tháng 8 năm 1990, đơn số 07/810,279, nộp ngày 17 tháng 12 năm 1991, đơn số 07/853,408, nộp ngày 18 tháng 3 năm 1992, đơn số 07/904,068, nộp ngày 23 tháng 6 năm 1992, đơn số 07/990,860, nộp ngày 16 tháng 12 năm 1992, đơn số 08/053,131, nộp ngày 26 tháng 4 năm 1993, đơn số 08/096,762, nộp ngày 22 tháng 7 năm 1993, đơn số 08/155,301, nộp ngày 18 tháng 11 năm 1993, đơn số 08/161,739, nộp ngày 3 tháng 12 năm 1993, đơn số 08/165,699, nộp ngày 10 tháng 12 năm 1993, đơn số 08/209,741, nộp ngày 9 tháng 3 năm 1994, nội dung của chúng được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Xem cả patent Châu Âu số 0 546 073 B1, các đơn sáng chế quốc tế số WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO

94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852, và WO 98/24884 và patent Mỹ số 5,981,175, nội dung của chúng được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn. Xem thêm Taylor *et al.*, 1992, Chen *et al.*, 1993, Tuaillon *et al.*, 1993, Choi *et al.*, 1993, Lonberg *et al.*, (1994), Taylor *et al.*, (1994), và Tuaillon *et al.*, (1995), Fishwild *et al.*, (1996), nội dung của chúng được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Kirin cũng đã chứng minh việc tạo ra các kháng thể của người từ chuột nhắt trong đó, thông qua việc dung hợp các tế bào cỡ micron, các mẩu to của các nhiễm sắc thể, hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể, được đưa vào. Xem đơn yêu cầu cấp patent Châu Âu số. 773 288 và 843 961, nội dung của chúng được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Ngoài ra, chuột nhắt KM™, mà là kết quả của việc gây giống chéo chuột nhắt Tc của Kirin với locus mini Medarex (Humab) chuột nhắt đã được tạo ra. Các con chuột nhắt này có liên nhiễm sắc thể IgH của người của chuột nhắt Kirin và gen chuyển chuỗi kapa của chuột nhắt Genpharm (Ishida *et al.*, *Cloning Stem Cells*, (2002) 4:91-102).

Các kháng thể của người còn có thể thu được theo các phương pháp *in vitro*. Các ví dụ thích hợp gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, biểu hiện thể thực khuẩn (CAT, Morphosys, Dyax, Biosite/Medarex, Xoma, Symphogen, Alexion (trước đây là Proliferon), Affimed) biểu hiện ribosom (CAT), biểu hiện nấm men, và các phương pháp tương tự.

Theo một số phương án, các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này mang các chuỗi nặng của IgG4 của người cũng như các chuỗi nặng IgG2. Các kháng thể còn có thể là kiểu tương đương khác của người, kể cả IgG1. Các kháng thể có ái lực cao, thường có Kd nằm trong khoảng từ 10^{-6} đến 10^{-13}M hoặc thấp hơn, nếu được đo theo các kỹ thuật khác nhau.

Như có thể hiểu được, các kháng thể có thể được biểu hiện trong các dòng tế bào khác dòng khối lai. Các trình tự ghi mã các kháng thể cụ thể có thể được dùng để biến nạp tế bào chủ của động vật có vú thích hợp. Việc biến nạp có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết bất kỳ để đưa polynucleotit vào tế bào chủ, bao gồm, ví dụ, bước gói polynucleotit vào virut (hoặc vào vật truyền virut)

và tải nạp tế bào chủ với virut (hoặc vật truyền) hoặc theo các quy trình chuyển nhiễm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như được đưa ra làm ví dụ là các patent Mỹ số 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461, và 4,959,455 (các patent này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Quy trình biến nạp này được áp dụng tùy theo vật chủ cần được biến nạp. Các phương pháp đưa các polynucleotit khác loài vào tế bào của động vật có vú đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian đextran, phương pháp làm kết tủa canxi phosphat, phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian polybren, phương pháp dung hợp thể nguyên sinh, phương pháp xung điện, phương pháp bao nang (các) polynucleotit trong liposom, và phương pháp tiêm trực tiếp ADN với lượng micro vào nhân.

Các dòng tế bào động vật có vú sẵn có làm vật chủ để biểu hiện là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm nhiều dòng tế bào đã được làm bất tử sẵn có từ Bộ Sưu tập Giống Mỹ (American Type Culture Collection - ATCC), gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào buồng trứng (CHO) của chuột đồng, các tế bào HeLa, tế bào thận của chuột đồng bào tử (BHK), tế bào thận của khỉ (COS), tế bào ung thư biểu mô tế bào gan ở người (ví dụ, Hep G2), tế bào biểu mô thận 293 của người, và nhiều dòng tế bào khác. Các dòng tế bào được ưu tiên đặc biệt được chọn thông qua việc xác định các dòng tế bào nào có mức độ biểu hiện cao và tạo ra các kháng thể có tính chất liên kết PCSK9 cơ định.

Theo các phương án nhất định, các kháng thể và/hoặc ABP được tạo ra bởi ít nhất một trong số các khối khối lai dưới đây: 21B12, 31H4, 16F12, khối lai bất kỳ khác được liệt kê trong Bảng 2 hoặc đã bộc lộ trong các ví dụ. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 với hằng số phân ly (K_D) thấp hơn 1nM, ví dụ, nằm trong khoảng từ 1000pM đến 100pM, từ 100pM đến 10pM, từ 10pM đến 1pM, và/hoặc từ 1pM đến 0,1pM hoặc thấp hơn.

Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên bao gồm phân tử globulin miễn dịch của ít nhất một trong số các kiểu tương đương IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE, IgA, IgD, và IgM. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ kapa của người và/hoặc chuỗi nặng

của người. Theo các phương án nhất định, chuỗi nặng là một trong số các kiểu tương đương IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE, IgA, IgD, hoặc IgM. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên được tách dòng để biểu hiện ở tế bào của động vật có vú. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng ổn định khác với vùng ổn định bất kỳ trong số các vùng ổn định của kiểu tương đương IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE, IgA, IgD, và IgM.

Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ lamda của người và chuỗi nặng IgG2 của người. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ lamda của người và chuỗi nặng IgG4 của người. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ lamda của người và chuỗi nặng của IgG1, IgG3, IgE, IgA, IgD hoặc IgM của người. Theo các phương án khác, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ kapa của người và chuỗi nặng IgG2 của người. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ kapa của người và chuỗi nặng IgG4 của người. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa chuỗi nhẹ kapa của người và chuỗi nặng IgG1, IgG3, IgE, IgA, IgD hoặc IgM của người. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa các vùng thay đổi của các kháng thể đã được nối với vùng ổn định mà không là vùng ổn định đối với kiểu tương đương IgG2, cũng không là vùng ổn định đối với kiểu tương đương IgG4. Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên được tách dòng để biểu hiện ở tế bào của động vật có vú.

Theo các phương án nhất định, các cải biến bảo toàn đối với các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể từ ít nhất một trong số các dòng khối lai: 21B12, 31H4 và 16F12 (và các cải biến tương ứng với các nucleotit ghi mã) sẽ tạo ra các kháng thể liên kết với PCSK9 có các tính chất chức năng và tính chất hóa học tương tự với các tính chất của các kháng thể từ các dòng khối lai: 21B12, 31H4 và 16F12. Trái lại, theo các phương án nhất định, các cải biến đáng kể về các tính chất chức năng và/hoặc các tính chất hóa học của các kháng thể liên kết với PCSK9 có thể được hoàn thành bằng cách chọn lọc các gốc thay thế trong trình tự axit amin

của các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ mà khác biệt đáng kể về mặt tác động của chúng trong việc duy trì (a) cấu trúc của khung phân tử ở vùng có thay thế, ví dụ, ở dạng cấu trúc tấm hoặc cấu trúc xoắn, (b) điện tích hoặc tính kỵ nước của phân tử tại vị trí đích, hoặc (c) khối của mạch bên.

Ví dụ, "gốc thay thế axit amin bảo toàn" có thể bao gồm sự thay thế gốc axit amin có trong tự nhiên bằng gốc không có trong tự nhiên sao cho ít có hoặc không có tác động đến tính phân cực hoặc tích điện của gốc axit amin ở vị trí đó. Ngoài ra, gốc tự nhiên bất kỳ trong polypeptit còn có thể được thay thế bằng alanin, như đã được bộc lộ trên đây cho "đột biến quét alanin."

Việc thay thế các axit amin mong muốn (dù là bảo toàn hoặc không bảo toàn) có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này tại thời điểm mong muốn có các thay thế đó. Theo các phương án nhất định, các gốc thay thế axit amin có thể được dùng để xác định các gốc quan trọng của các kháng thể liên kết với PCSK9, hoặc để làm tăng hoặc giảm ái lực của các kháng thể liên kết với PCSK9 như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo các phương án nhất định, các kháng thể theo sáng chế có thể được biểu hiện ở các dòng tế bào khác với dòng khối lai. Theo các phương án nhất định, các trình tự ghi mã các kháng thể cụ thể có thể được dùng cho sự biến nạp tế bào chủ của động vật có vú thích hợp. Theo các phương án nhất định, việc biến nạp có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết bất kỳ để đưa polynucleotit vào tế bào chủ, bao gồm, ví dụ, việc bao gói polynucleotit vào virut (hoặc vào vật truyền virut) và tải nạp tế bào chủ với virut (hoặc vật truyền) hoặc theo các quy trình chuyển nhiễm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như được đưa ra làm ví dụ là các patent Mỹ số 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461, và 4,959,455 (các patent này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích). Theo các phương án nhất định, quy trình biến nạp được áp dụng có thể tùy theo vật chủ cần được biến nạp. Các phương pháp đưa các polynucleotit khác loài vào tế bào của động vật có vú là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian đextran, phương pháp làm kết tủa canxi phosphat, phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian polybren, phương pháp dung

hợp thể nguyên sinh, phương pháp xung điện, phương pháp bao nang (các) polynucleotit trong các liposom, và phương pháp tiêm trực tiếp ADN với lượng micro vào nhân.

Các dòng tế bào động vật có vú sẵn có làm vật chủ để biểu hiện là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nhiều dòng tế bào đã được làm bất tử sẵn có từ Bộ Sưu tập Giống Mỹ (ATCC), gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào buồng trứng (CHO) của chuột đồng, các tế bào HeLa, tế bào thận của chuột đồng bào tử (BHK), tế bào thận của khỉ (COS), tế bào ung thư biểu mô tế bào gan ở người (ví dụ, Hep G2), và nhiều dòng tế bào khác. Theo các phương án nhất định, các dòng tế bào có thể được chọn lọc thông qua việc xác định các dòng tế bào nào có mức độ biểu hiện cao và tạo ra các kháng thể có các tính chất liên kết HGF cơ định. Các vật truyền biểu hiện thích hợp cho tế bào chủ của động vật có vú là đã biết.

Theo các phương án nhất định, các protein liên kết kháng nguyên chứa một hoặc nhiều polypeptit. Theo các phương án nhất định, hệ bất kỳ trong số các hệ vật truyền biểu hiện/vật chủ có thể được sử dụng để biểu hiện các phân tử polynucleotit ghi mã các polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP. Các hệ này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vi sinh vật, như vi khuẩn đã được chuyển nhiễm với thể thực khuẩn tái tổ hợp, plasmit, hoặc các vật truyền biểu hiện ADN của cosmid; nấm men đã được chuyển nhiễm với các vật truyền biểu hiện nấm men; các hệ tế bào côn trùng đã được chuyển nhiễm với các vật truyền biểu hiện virut (ví dụ, baculovirut); các hệ tế bào thực vật đã được chuyển nhiễm với các vật truyền biểu hiện virut (ví dụ, virut khảm súp lơ, CaMV, virut khảm thuốc lá, TMV) hoặc đã được chuyển nhiễm với các vật truyền biểu hiện vi khuẩn (ví dụ, plasmit Ti hoặc pBR322); hoặc các hệ tế bào động vật.

Theo các phương án nhất định, polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP được biểu hiện theo cách tái tổ hợp ở nấm men. Các phương án này sử dụng các hệ biểu hiện có bán trên thị trường, ví dụ, hệ biểu hiện *Pichia* (Invitrogen, San Diego, CA), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Theo các phương án nhất định, hệ này dựa vào trình tự pre-pro-alpha để điều khiển quá trình

tiết. Theo các phương án nhất định, việc phiên mã vật chèn được dẫn bởi gen khởi đầu rượu oxiđaza (AOX1) sau khi cảm ứng bởi metanol.

Theo các phương án nhất định, polypeptit tiết ra chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP được tinh chế từ môi trường sinh trưởng nấm men. Theo các phương án nhất định, các phương pháp được áp dụng để tinh chế polypeptit từ môi trường nuôi cấy nấm men là giống phương pháp đã áp dụng để tinh chế polypeptit từ dịch nổi tế bào vi khuẩn và dịch nổi tế bào động vật có vú.

Theo các phương án nhất định, axit nucleic ghi mã polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP được tách dòng vào vật truyền biểu hiện baculovirut, như pVL1393 (PharMingen, San Diego, CA). Theo các phương án nhất định, vật truyền này có thể được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất (PharMingen) để gây nhiễm các tế bào *Spodoptera frugiperda* vào môi trường không có sF9 protein và để tạo ra polypeptit tái tổ hợp. Theo các phương án nhất định, polypeptit được tinh chế và cô từ môi trường này bằng cách sử dụng cột heparin-Sepharoza (do Pharmacia cung cấp).

Theo các phương án nhất định, polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP được biểu hiện trong hệ côn trùng. Một số hệ côn trùng để biểu hiện polypeptit là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Trong một hệ này, virut nhiều mặt của nhân *Autographa californica* (AcNPV) được sử dụng làm vật truyền để biểu hiện gen lạ trong các tế bào *Spodoptera frugiperda* hoặc trong các ấu trùng *Trichoplusia*. Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic ghi mã polypeptit có thể được cài xen vào gen không cơ bản của virut này, ví dụ, trong gen polyhedrin, và đặt dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu cho gen đó. Theo các phương án nhất định, việc cài xen thành công phân tử axit nucleic sẽ làm bất hoạt gen không cơ bản. Theo các phương án nhất định, việc bất hoạt đó dẫn đến đặc tính phát hiện được. Ví dụ, việc làm bất hoạt gen polyhedrin dẫn đến quá trình sản xuất virut không có protein bao.

Theo các phương án nhất định, các virut tái tổ hợp có thể được sử dụng để gây nhiễm các tế bào *S. frugiperda* hoặc ấu trùng *Trichoplusia*. Ví dụ, xem: Smith

et al., *J. Virol.*, 46: 584 (1983); Engelhard *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 91: 3224-7 (1994).

Theo các phương án nhất định, các polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP tạo ra trong các tế bào vi khuẩn được tạo ra ở dạng các thể vùi không hòa tan trong vi khuẩn. Theo các phương án nhất định, các tế bào chủ chứa các thể vùi này được thu bằng cách ly tâm; được rửa trong 0,15M NaCl, 10mM Tris, pH=8, 1mM EDTA; và được xử lý bằng 0,1mg/ml lysozym (Sigma, St. Louis, MO) trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Theo các phương án nhất định, dịch dung giải được làm trong bằng cách xử lý bằng siêu âm, và các phần vụn tế bào được kết viên bằng cách ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 12.000 X g. Theo các phương án nhất định, viên chứa polypeptit được tạo huyền phù lại trong 50mM Tris, pH=8, và 10mM EDTA; được tạo lớp trên 50% glyxerol; và được ly tâm trong 30 phút ở tốc độ 6000 X g. Theo các phương án nhất định, viên kết đó có thể được tạo huyền phù lại trong dung dịch nước muối đệm phosphat chuẩn (PBS) không chứa Mg^{++} và Ca^{++}. Theo các phương án nhất định, polypeptit được tinh chế tiếp bằng cách phân đoạn viên kết đã được tạo huyền phù lại trong gen SDS polyacrylamit làm biến tính (xem: *ví dụ,* tài liệu của Sambrook *và các đồng tác giả*, nêu trên). Theo các phương án nhất định, gel như vậy có thể được ngâm trong 0,4M KCl để nhìn thấy protein này, mà có thể được cắt và được điện rửa giải trong dung dịch đệm chạy trên gel thiếu SDS. Theo các phương án nhất định, protein dung hợp Glutathion-S-Transferaza (GST) được tạo ra trong vi khuẩn ở dạng protein hòa tan. Theo các phương án nhất định, protein dung hợp GST này được tinh chế bằng cách sử dụng môđun tinh chế GST (Pharmacia).

Theo các phương án nhất định, mong muốn để "gấp nếp lại" một số polypeptit nhất định, ví dụ, các polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP. Theo các phương án nhất định, các polypeptit này được tạo ra bằng cách sử dụng các hệ tái tổ hợp nhất định được bàn luận đến trong bản mô tả này. Theo các phương án nhất định, các polypeptit được "gấp nếp lại" và/hoặc được oxy hóa để tạo ra cấu trúc bậc ba mong muốn và/hoặc để tạo ra liên kết đisulfua. Theo các phương án nhất định, cấu trúc này và/hoặc liên kết này liên

quan đến hoạt tính sinh học nhất định của polypeptit. Theo các phương án nhất định, việc gấp nếp lại được thực hiện bằng cách áp dụng quy trình bất kỳ trong số các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc cho tác nhân polypeptit đã được hoà tan tiếp xúc ở độ pH thường cao hơn 7 với sự có mặt của cơ chất sản ra ion làm tan mảng sinh học (chaotropic). Cơ chất sản ra ion làm tan mảng sinh học được đưa ra làm ví dụ là guaniđin. Theo các phương án nhất định, dung dịch chứa polypeptit gấp nếp lại/oxy hóa còn chứa tác nhân khử và dạng đã oxy hóa của tác nhân khử đó. Theo các phương án nhất định, tác nhân khử và dạng đã oxy hóa của nó có mặt theo tỷ lệ mà sẽ tạo ra thế oxy hóa khử cụ thể mà cho phép chuyển dịch đisulfua. Theo các phương án nhất định, sự xê dịch này cho phép tạo ra cầu xystein. Các cặp oxy hóa khử được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xystein/cystamin, glutathion/đithiobisGSH, đồng clorua, đithiothreitol DTT/đithian DTT, và 2-mercaptoetanol (bME)/đithio-bME. Theo các phương án nhất định, đồng dung môi được dùng để tăng hiệu quả của việc gấp nếp lại. Các đồng dung môi được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, glyxerol, polyetylen glycol có phân tử lượng khác nhau, và arginin.

Theo các phương án nhất định, một polypeptit hầu như tinh khiết chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết một số kỹ thuật tinh chế protein nhất định. Theo các phương án nhất định, việc tinh chế protein bao gồm việc phân đoạn thô các phân đoạn polypeptit ra khỏi các phân đoạn không là polypeptit. Theo các phương án nhất định, các polypeptit được tinh chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật sắc ký và/hoặc các kỹ thuật điện chuyển. Các phương pháp làm ví dụ tinh chế gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp làm kết tủa bằng amoni sulphat; phương pháp làm kết tủa bằng PEG; phương pháp kết lắng miễn dịch; phương pháp làm biến tính bằng nhiệt, tiếp theo là ly tâm; phương pháp sắc ký, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp sắc ký theo ái lực (ví dụ, Protein-A-Sepharoza), phương pháp sắc ký trao đổi ion, phương pháp sắc ký loại trừ, và phương pháp sắc ký đảo pha; lọc gel; sắc ký dùng hyđroxyapatit; kỹ thuật điện di được thực hiện cùng với

việc duy trì gradien pH giữa các điện cực; điện di gel polyacrylamit; và kết hợp các kỹ thuật này và các kỹ thuật khác. Theo các phương án nhất định, polypeptit được tinh chế theo phương pháp sắc ký lỏng protein nhanh hoặc theo phương pháp sắc kỹ lỏng cao áp (HPLC). Theo các phương án nhất định, các bước tinh chế có thể thay đổi hoặc một số bước nhất định có thể bỏ qua, và vẫn là phương pháp thích hợp để điều chế polypeptit hầu như tinh khiết.

Theo các phương án nhất định, có thể định lượng mức độ tinh chế của chế phẩm polypeptit. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết một số phương pháp định lượng mức độ tinh chế. Một số phương pháp nhất định được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp xác định hoạt tính liên kết đặc hiệu của chế phẩm và đánh giá lượng polypeptit trong chế phẩm theo phân tích SDS/PAGE. Một số phương pháp nhất định được đưa ra làm ví dụ để đánh giá mức độ tinh chế của chế phẩm polypeptit bao gồm phương pháp tính hoạt tính liên kết của chế phẩm và so sánh nó với hoạt tính liên kết của dịch chiết ban đầu. Theo các phương án nhất định, kết quả của tính toán này được biểu thị dưới dạng "số lần tinh chế". Đơn vị được dùng để biểu thị định lượng hoạt tính liên kết phụ thuộc vào thử nghiệm cụ thể được thực hiện.

Theo các phương án nhất định, polypeptit chứa một hoặc nhiều thành phần của ABP hoặc chính ABP được tinh chế một phần. Theo các phương án nhất định, việc tinh chế một phần có thể được hoàn thành bằng cách sử dụng ít bước tinh chế hơn hoặc bằng cách sử dụng các dạng khác nhau của cùng sơ đồ tinh chế chung. Ví dụ, theo các phương án nhất định, sắc ký cột trao đổi cation được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị sắc ký lỏng cao áp (HPLC) thường tạo ra "số lần tinh chế" cao hơn so với cùng kỹ thuật này mà sử dụng hệ sắc ký áp suất thấp. Theo các phương án nhất định, các phương pháp tạo ra mức độ tinh chế thấp hơn có thể có các ưu điểm về tổng mức thu hồi polypeptit, hoặc trong việc duy trì hoạt tính liên kết của polypeptit.

Trong một số trường hợp nhất định, hiện tượng di trú điện chuyển của polypeptit có thể thay đổi, đôi khi ở mức độ đáng kể, theo các điều kiện khác nhau của SDS/PAGE. Ví dụ, xem: Capaldi *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 76:

425 (1977). Có thể thấy rằng trong các điều kiện diện di khác nhau, phân tử lượng biểu kiến của polypeptit tinh khiết hoặc tinh khiết một phần có thể là khác nhau.

Các biểu vị được đưa ra làm ví dụ

Các biểu vị mà các kháng thể kháng PCSK9 liên kết vào được đề xuất. Theo một số phương án, các biểu vị mà được liên kết bởi các kháng thể được đề xuất theo sáng chế này là đặc biệt hữu dụng. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên mà liên kết với biểu vị bất kỳ trong số các biểu vị mà được liên kết bởi các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này là hữu dụng. Theo một số phương án, các biểu vị được liên kết bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể liệt kê trong Bảng 2 và Fig. 2 và Fig. 3 là đặc biệt hữu dụng. Theo một số phương án, biểu vị này nằm trên miền xúc tác PCSK9.

Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng để ngăn chặn (ví dụ, làm giảm) liên kết của kháng thể kháng PCSK9 hoặc protein liên kết kháng nguyên với PCSK9. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng để làm giảm mức độ liên kết của kháng thể kháng PCSK9 hoặc protein liên kết kháng nguyên với PCSK9. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng để ức chế đáng kể liên kết của kháng thể kháng PCSK9 hoặc protein liên kết kháng nguyên với PCSK9.

Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng để phân lập các kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên mà liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng để tạo ra các kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên mà liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 hoặc trình tự chứa biểu vị PCSK9 có thể được dùng làm chất gây miễn dịch để tạo ra các kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên mà liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 có thể được dùng cho động vật, và sau đó các kháng thể mà liên kết với PCSK9 có thể thu được từ động vật đó. Theo các phương án nhất định, biểu vị PCSK9 hoặc trình tự chứa biểu vị PCSK9 có thể được dùng để cản trở hoạt tính qua trung gian PCSK9 bình thường, như sự kết hợp của PCSK9 với LDLR.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên đã được bộc lộ trong bản mô tả này liên kết một cách đặc hiệu với miền proprotein (pro domain) của đầu tận cùng N, miền xúc tác kiểu subtilisin và/hoặc miền C ở đầu tận cùng. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với rãnh liên kết cơ chất của PCSK-9 (đã được bộc lộ trong tài liệu của Cunningham và các đồng tác giả, được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo một số phương án, (các) miền/(các) vùng chứa các gốc mà tiếp xúc với hoặc được phủ bởi kháng thể có thể được xác định bằng cách làm đột biến các gốc cụ thể trong PCSK9 (ví dụ, kháng nguyên loại dại) và xác định xem protein liên kết kháng nguyên có thể liên kết protein PCSK9 được đột biến hoặc protein PCSK9 biến thể hay không. Bằng cách tạo ra nhiều đột biến riêng rẽ, các gốc mà đóng vai trò trực tiếp trong sự liên kết hoặc là đủ gần với kháng thể sao cho đột biến có thể tác động đến liên kết giữa protein liên kết kháng nguyên và kháng nguyên có thể được xác định. Dựa vào các kiến thức về các axit amin này, (các) vùng hoặc (các) miền của kháng nguyên mà chứa các gốc tiếp xúc với protein liên kết kháng nguyên hoặc được phủ bởi kháng thể có thể được làm sáng tỏ. Miền này có thể bao gồm biểu vị liên kết của protein liên kết kháng nguyên. Một ví dụ cụ thể về hướng chung này sử dụng quy trình quét axit arginin/glutamic (xem: ví dụ, Nanevicz, T., *et al*., 1995, *J. Biol. Chem*., 270:37, 21619-21625 và Zupnick, A., *et al*., 2006, *J. Biol. Chem.*, 281:29, 20464-20473). Nói chung, axit arginin và axit glutamic được thay thế (thường là riêng rẽ) cho axit amin trong polypeptit loại dại do các axit amin này mang điện tích và cồng kềnh và do đó có xu hướng phá vỡ liên kết giữa protein liên kết kháng nguyên và kháng nguyên ở vùng của kháng nguyên, nơi mà đột biến được đưa vào. Các arginin có mặt trong kháng nguyên loại dại được thay thế bằng axit glutamic. Nhiều loại đột biến riêng lẻ này thu được và các kết quả liên kết đã tập hợp được phân tích để xác định gốc nào ảnh hưởng đến sự liên kết.

Sự biến đổi (ví dụ, làm giảm hoặc làm tăng) ở liên kết giữa protein liên kết kháng nguyên và PCSK9 biến thể như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là có thay đổi về ái lực liên kết (ví dụ, như đo được theo các phương pháp đã biết

như thử nghiệm Biacore hoặc thử nghiệm trên cơ sở hạt được mô tả dưới đây trong các ví dụ), EC_{50}, và/hoặc sự thay đổi (ví dụ, làm giảm) về tổng khả năng liên kết của protein liên kết kháng nguyên (ví dụ, như được thấy rõ ở hiện tượng giảm Bmax trên đồ thị về nồng độ của protein liên kết kháng nguyên so với nồng độ kháng nguyên). Sự biến đổi đáng kể về mức độ liên kết cho thấy rằng gốc đột biến tham gia một cách trực tiếp vào sự liên kết với protein liên kết kháng nguyên hoặc ở gần protein liên kết khi protein liên kết này được liên kết với kháng nguyên.

Theo một số phương án, hiện tượng giảm đáng kể mức độ liên kết có nghĩa là ái lực liên kết, EC50, và/hoặc khả năng giữa protein liên kết kháng nguyên và kháng nguyên PCSK9 đột biến được làm giảm nhiều hơn 10%, nhiều hơn 20%, nhiều hơn 40%, nhiều hơn 50%, nhiều hơn 55%, nhiều hơn 60%, nhiều hơn 65%, nhiều hơn 70%, nhiều hơn 75%, nhiều hơn 80%, nhiều hơn 85%, nhiều hơn 90% hoặc nhiều hơn 95% so với liên kết giữa protein liên kết kháng nguyên và PCSK9 loại dại (ví dụ, được nêu trong SEQ ID NO: 1 và/hoặc SEQ ID NO: (303). Theo các phương án nhất định, mức độ liên kết được làm giảm thấp hơn giới hạn có thể phát hiện được. Theo một số phương án, hiện tượng giảm đáng kể mức độ liên kết được thể hiện khi mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên với protein PCSK9 biến thể thấp hơn 50% (ví dụ, thấp hơn 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% hoặc 10%) mức độ liên kết được quan sát giữa protein liên kết kháng nguyên và protein PCSK9 loại dại (ví dụ, protein nêu trong SEQ ID NO: 1 và/hoặc SEQ ID NO: (303)). Các phép đo mức độ liên kết này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều loại thử nghiệm liên kết đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên được đề xuất mà thể hiện mức độ liên kết thấp hơn đáng kể đối với protein PCSK9 biến thể, trong đó gốc ở protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303 được thay thế bằng axit arginin hoặc axit glutamic. Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 biến thể có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, hoặc 244) đột biến trong số các đột biến sau: R207E, D208R, R185E, R439E, E513R, V538R, E539R, T132R, S351R, A390R, A413R, E582R, D162R, R164E,

E167R, S123R, E129R, A311R, D313R, D337R, R519E, H521R, và Q554R so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Trong các ký hiệu viết tắt được dùng trong bản mô tả này, định dạng là: Gốc loại dại: vị trí trong polypeptit: Gốc đột biến, với cách đánh số các gốc là như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303.

Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc nhiều hơn) đột biến trong số các đột biến ở các vị trí sau: 207, 208, 185, 181, 439, 513, 538, 539, 132, 351, 390, 413, 582, 162, 164, 167, 123, 129, 311, 313, 337, 519, 521, và 554, như được nêu trong SEQ ID NO: 1 so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303). Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên được làm giảm hoặc tăng đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc nhiều hơn) đột biến trong số các đột biến ở các vị trí sau: 207, 208, 185, 181, 439, 513, 538, 539, 132, 351, 390, 413, 582, 162, 164, 167, 123, 129, 311, 313, 337, 519, 521, và 554, như được nêu trong SEQ ID NO: 1 so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303). Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc nhiều hơn) đột biến trong số các đột biến ở các vị trí sau: 207, 208, 185, 181, 439, 513, 538, 539, 132, 351, 390, 413, 582, 162, 164, 167, 123, 129, 311, 313, 337, 519, 521, và 554, trong SEQ ID NO: 1 so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303).

Theo một số phương án, mức độ liên kết của ABP được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, v.v.) đột biến trong số các đột biến sau: R207E, D208R, R185E, R439E, E513R, V538R, E539R, T132R, S351R, A390R, A413R, E582R, D162R, R164E, E167R, S123R, E129R, A311R, D313R, D337R, R519E, H521R, và Q554R nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303, so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303).

Theo một số phương án, mức độ liên kết của ABP được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, v.v.) đột biến trong số các đột biến sau: R207E, D208R, R185E, R439E, E513R, V538R, E539R, T132R, S351R, A390R, A413R, và E582R nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303, so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303). Theo một số phương án, mức độ liên kết được làm giảm. Theo một số phương án, sự giảm mức độ liên kết được quan sát theo thay đổi về EC50. Theo một số phương án, thay đổi về EC50 là sự tăng trị số EC50 (và do đó làm giảm mức độ liên kết).

Theo một số phương án, mức độ liên kết của ABP được làm giảm hoặc tăng đáng kể đối với protein PCSK9 đột biến có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, v.v.) đột biến trong số các đột biến sau: D162R, R164E, E167R, S123R, E129R, A311R, D313R, D337R, R519E, H521R, và Q554R nêu trong SEQ ID NO: 1, so với protein PCSK9 loại dại (ví dụ, SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303). Theo một số phương án, mức độ liên kết được làm giảm. Theo một số phương án, sự giảm mức độ liên kết được quan sát theo thay đổi về Bmax. Theo một số phương án, sự dịch chuyển Bmax là sự giảm tín hiệu tối đa do ABP tạo ra. Theo một số phương án, đối với axit amin là một phần của biểu vị, Bmax được làm giảm ít nhất là 10%, ví dụ, mức giảm ít nhất là một lượng trong số các lượng sau: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 98, 99, hoặc 100 phần trăm, theo một số phương án, có thể biểu thị rằng gốc này là một phần của biểu vị.

Mặc dù các dạng biến thể liệt kê trên đây được tham chiếu với trình tự loại dại được nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303, nhưng nên được hiểu rằng biến thể alen của axit amin của PCSK9 tại vị trí đã nêu có thể khác. Các protein liên kết kháng nguyên thể hiện mức độ liên kết thấp hơn đáng kể đối với các dạng alen này của PCSK9 cũng được dự tính. Do đó, theo một số phương án, phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên có thể được so sánh với trình tự alen, hơn là trình tự loại dại được thể hiện trên Fig. 1A

Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên được làm giảm đáng kể đối với protein PCSK9 biến thể, trong đó gốc tại một vị trí

đã chọn trong protein PCSK9 loại dại được đột biến thành gốc bất kỳ khác. Theo một số phương án, các thay thế axit arginin/axit glutamic mô tả trong bản mô tả này được dùng cho các vị trí đã được nhận biết. Theo một số phương án, alanin được dùng cho các vị trí đã được nhận biết.

Như được lưu ý ở trên, các gốc tham gia một cách trực tiếp vào liên kết hoặc được phủ bởi protein liên kết kháng nguyên có thể được nhận biết từ các kết quả quét. Do đó, các gốc này có thể cung cấp dấu hiệu về các miền hoặc vùng nêu trong SEQ ID NO: 1 (hoặc SEQ ID NO: 303 hoặc SEQ ID NO: 3) mà chứa (các) vùng liên kết mà các protein liên kết kháng nguyên liên kết vào. Như có thể thấy từ các kết quả đã được tổng kết trong Ví dụ 39, theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với miền chứa ít nhất một trong số các axit amin: 207, 208, 185, 181, 439, 513, 538, 539, 132, 351, 390, 413, 582, 162, 164, 167, 123, 129, 311, 313, 337, 519, 521, và 554 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số các axit amin: 207, 208, 185, 181, 439, 513, 538, 539, 132, 351, 390, 413, 582, 162, 164, 167, 123, 129, 311, 313, 337, 519, 521, và 554 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số các axit amin: 162, 164, 167, 207 và/hoặc 208 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, nhiều hơn một (ví dụ, 2, 3, 4, hoặc 5) gốc trong số các gốc đã được nhận biết là một phần của vùng mà được liên kết bởi ABP. Theo một số phương án, ABP cạnh tranh với ABP 21B12.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số axit amin 185 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, ABP cạnh tranh với ABP 31H4.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số các axit amin: 439, 513, 538, và/hoặc 539 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, nhiều hơn một (ví dụ, 2,

3, hoặc 4) gốc trong số các gốc đã được nhận biết là một phần của vùng mà được liên kết bởi ABP. Theo một số phương án, ABP cạnh tranh với ABP 31A4.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số các axit amin: 123, 129, 311, 313, 337, 132, 351, 390, và/hoặc 413 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, nhiều hơn một (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, hoặc 9) gốc trong số các gốc đã được nhận biết là một phần của vùng mà được liên kết bởi ABP. Theo một số phương án, ABP cạnh tranh với ABP 12H11.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với vùng chứa ít nhất một trong số các axit amin: 582, 519, 521, và/hoặc 554 nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo một số phương án, nhiều hơn một (ví dụ, 2, 3, hoặc 4) gốc trong số các gốc đã được nhận biết là một phần của vùng mà được liên kết bởi ABP. Theo một số phương án, ABP cạnh tranh với ABP 3C4.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với các vùng nêu trên trong đoạn hoặc trình tự có chiều dài đầy đủ nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303. Theo các phương án khác, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với các polypeptit chứa các vùng này. Việc viện dẫn đến "SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 303" biểu thị rằng một hoặc cả hai trình tự này đều có thể được sử dụng hoặc có liên quan. Cụm từ này không biểu thị rằng chỉ nên sử dụng một trong số chúng.

Như được lưu ý ở trên, phần mô tả trên đây viện dẫn các vị trí axit amin có viện dẫn đến SEQ ID NO: 1. Tuy nhiên, trong toàn bộ bản mô tả nói chung, có viện dẫn đến miền Pro/Cat bắt đầu ở vị trí 31, mà được nêu trong SEQ ID NO: 3. Như được lưu ý dưới đây, SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO: 303 không có trình tự tín hiệu của PCSK9. Như vậy, sự so sánh bất kỳ giữa các nội dung bộc lộ khác nhau này cần xem xét đến sự sai khác khi đánh số. Cụ thể là, vị trí axit amin bất kỳ nêu trong SEQ ID NO: 1, sẽ tương ứng với axit amin vị trí 30, các axit amin tiếp nữa vào protein nêu trong SEQ ID NO: 3. Ví dụ, vị trí 207 nêu trong SEQ ID NO: 1, tương ứng với vị trí 237 nêu trong SEQ ID NO: 3 (trình tự có chiều dài đầy đủ, và hệ đánh số được dùng chung trong bản mô tả này). Bảng 39.6 thể hiện các vị trí

nêu trên, mà viện dẫn đến SEQ ID NO: 1 (và/hoặc SEQ ID NO: 303) tương ứng với SEQ ID NO: 3 (bao gồm cả trình tự tín hiệu). Do đó, phương án bất kỳ trong số các phương án mà được bộc lộ liên quan đến SEQ ID NO: 1 (và/hoặc SEQ ID NO: 303), được bộc lộ có liên quan tới SEQ ID NO: 3 theo các vị trí tương ứng đã được ghi chú.

Theo một số phương án, ABP 21B12 liên kết với biểu vị bao gồm các gốc từ 162 đến 167 (ví dụ, các gốc từ D162 đến E167 nêu trong SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, ABP 12H11 liên kết với biểu vị mà chứa các gốc từ 123 đến 132 (ví dụ, S123 đến T132 nêu trong SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, ABP 12H11 liên kết với biểu vị mà bao gồm các gốc từ 311 đến 313 (ví dụ, từ A311 đến D313 nêu trong SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, ABP có thể liên kết với biểu vị mà bao gồm sợi bất kỳ trong số các sợi này của trình tự.

Sự cạnh tranh của các protein liên kết kháng nguyên

Theo một khía cạnh khác, các protein liên kết kháng nguyên được đề xuất cạnh tranh với một trong số các kháng thể được đưa ra làm ví dụ hoặc các đoạn chức năng liên kết với biểu vị được bộc lộ trong bản mô tả này để liên kết đặc hiệu với PCSK9. Các protein liên kết kháng nguyên này còn có thể liên kết với cùng một biểu vị như một trong số các protein liên kết kháng nguyên được đưa ra làm ví dụ trong bản mô tả này, hoặc biểu vị chồng lên nhau. Các protein liên kết kháng nguyên và các đoạn cạnh tranh hoặc liên kết với cùng biểu vị như các protein liên kết kháng nguyên được đưa ra làm ví dụ được mong đợi thể hiện các tính chất chức năng tương tự. Các protein liên kết kháng nguyên và các đoạn được đưa ra làm ví dụ bao gồm các protein và các đoạn nêu trên, kể cả các protein và các đoạn có chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, các miền của vùng thay đổi và CDR nêu trong Bảng 2 và/hoặc trên các Fig. 2 đến 3. Do đó, là một ví dụ cụ thể, các protein liên kết kháng nguyên được đề xuất bao gồm các protein cạnh tranh với kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên có:

(a) tất cả 6 CDR đã được liệt kê cho kháng thể được liệt kê trên các Fig. 2 đến 3;

(b) VH và VL đã được liệt kê cho kháng thể được liệt kê trong Bảng 2; hoặc

(c) hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng như được cụ thể hóa cho kháng thể được liệt kê trong Bảng 2.

Dược phẩm dùng để điều trị và cách dùng

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa các protein liên kết kháng nguyên đối với PCSK9. Thuật ngữ "dược phẩm"được dùng trong bản mô tả này có nghĩa là dược phẩm vô trùng chứa hoạt chất có dược tính, cụ thể là ít nhất một protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, mà là thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa (gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường dùng trong tĩnh mạch, trong cơ, dưới da, khí dung, trong phổi, trong mũi, hoặc nội tủy mạc) cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị và chỉ gồm các tá dược, các chất pha loãng, và các chất phụ gia khác được Cục Quản lý Dược hoặc cơ quan nước ngoài khác cho là an toàn. Các dược phẩm bao gồm dạng lỏng, ví dụ, dạng trong nước, dung dịch có thể được dùng một cách trực tiếp, và bột đã được đông khô mà nó có thể được hoàn nguyên thành dung dịch bằng cách bổ sung chất pha loãng vào trước khi dùng. Đặc biệt, các chế phẩm để dùng khu trú cho bệnh nhân, các chế phẩm để ăn vào qua đường miệng, và các chế phẩm để cung cấp ngoài đường tiêu hóa, được loại trừ ra khỏi phạm vi của thuật ngữ "dược phẩm".

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này là dược phẩm ổn định. Các thuật ngữ, "dược phẩm ổn định", "chế phẩm dược ổn định" hoặc "dược phẩm là ổn định" được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ dược phẩm chứa các protein có hoạt tính sinh học mà thể hiện mức độ kết tụ tăng và/hoặc mức hao hụt hoạt tính sinh học giảm không quá 5% khi được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2°C đến 8°C trong thời gian ít nhất là 1 tháng, hoặc 2 tháng, hoặc 3 tháng, hoặc 6 tháng, hoặc 1 năm hoặc 2 năm so với mẫu chế phẩm đối chứng. Tính ổn định của chế phẩm có thể dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách sử dụng các thử nghiệm bất kỳ trong số các thử nghiệm chuẩn, gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sắc ký lỏng cao áp loại trừ theo cỡ

("SEC-HPLC"), sắc ký lỏng cao áp trao đổi cation (CEX-HPLC), dò phần tử bé hơn mức có thể nhìn thấy được bằng cách che khuất ánh sáng ("HIAC") và/hoặc quan sát bằng mắt.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa protein bất kỳ trong số các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được thể hiện trong Bảng 2 và trên Fig. 2 và/hoặc Fig. 3 và Fig. 48A và Fig. 48B. Theo các phương án nhất định khác, dược phẩm có thể chứa các protein liên kết kháng nguyên khác liên kết với PCSK9; cụ thể là kháng thể chứa miền thay đổi của chuỗi nhẹ, SEQ ID NO:588 và miền thay đổi của chuỗi nặng, SEQ ID NO:589. Theo một số phương án, dược phẩm chứa một trong số 21B12, 26H5, 31H4, 8A3, 11F1 hoặc 8A1.

Theo một số phương án, dược phẩm này chứa nhiều hơn một protein liên kết kháng nguyên khác nhau liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa nhiều hơn một protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, trong đó các protein liên kết kháng nguyên PCSK9 liên kết với nhiều hơn một biểu vị. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên khác nhau sẽ không cạnh tranh với nhau để liên kết với PCSK9. Theo một số phương án, protein bất kỳ trong số các protein liên kết kháng nguyên được thể hiện trong Bảng 2 và trên Fig. 2 và/hoặc Fig. 3 có thể được kết hợp cùng nhau trong dược phẩm.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 và/hoặc phân tử có tác dụng điều trị bệnh được liên kết với chất dẫn kéo dài thời gian bán thải đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất dẫn này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyetylen glycol, glycogen (ví dụ, sự glycosyl hóa của ABP), và đextran. Các chất dẫn này được bộc lộ, ví dụ, trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 09/428,082, nay là patent Mỹ số 6,660,843 và công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 99/25044, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích.

Theo các phương án nhất định, tốt hơn nếu nguyên liệu bào chế chấp nhận được là không độc đối với người dùng ở các liều lượng và nồng độ được dùng. Theo một số phương án, (các) nguyên liệu bào chế là để dùng dưới da và/hoặc trong tĩnh mạch. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa các nguyên

liệu bào chế để cải biến, duy trì hoặc bảo quản, ví dụ, độ pH, nồng độ molal đồng thẩm áp, độ nhớt, độ trong, màu sắc, tính đẳng trương, mùi, độ vô trùng, độ ổn định, tốc độ hòa tan hoặc giải phóng, mức độ hấp phụ hoặc thấm dược phẩm này.

Theo các phương án nhất định, nguyên liệu bào chế thích hợp gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các axit amin (như prolin, arginin, lysin, methionin, taurin, glyxin, glutamin, hoặc asparagin); các chất kháng khuẩn; các chất chống oxy hóa (như axit ascorbic, natri sulfit hoặc natri hyđro sulfit); các dung dịch đệm (như borat, bicacbonat, natri phosphat ("NaOAC"), Tris-HCl, dung dịch đệm Tris, xitrat, dung dịch đệm phosphat, nước muối đệm phosphat (tức là, dung dịch đệm PBS) hoặc các axit hữu cơ khác); các tác nhân tạo khối (như manitol hoặc glyxin); các chất chelat hóa (như axit etylenđiamin tetra axetic (EDTA)); các tác nhân tạo phức (như cafein, polyvinylpyroliđon, beta-xyclođextrin hoặc hyđroxypropyl-beta-xyclođextrin); các chất độn; các monosacarit; các đisacarit; và các hyđrat cacbon khác (như glucoza, sucroza, fructoza, lactoza, manoza, trehaloza, hoặc đextrin); các protein (như albumin huyết thanh, gelatin hoặc các globulin miễn dịch); tác nhân tạo màu, tác nhân điều vị và tác nhân pha loãng; các tác nhân nhũ hóa; các polyme ưa nước (như polyvinylpyroliđon); các polypeptit có phân tử lượng thấp; các ion trái dấu tạo muối (như natri); chất bảo quản (như benzalkoni clorua, axit benzoic, axit salixylic, thimerosal, rượu phenetylic, metylparaben, propylparaben, clohexiđin, axit sorbic hoặc hyđro peroxit); các dung môi (như glyxerin, propylen glycol hoặc polyetylen glycol); rượu đường (như manitol hoặc sorbitol); các tác nhân tạo huyền phù; các chất hoạt động bề mặt hoặc các tác nhân thấm ướt (như pluronic, PEG, sorbitan este, các polysorbate như polysorbate 20, polysorbate 80, triton, tromethamin, lexitin, cholesterol, tyloxapal); các tác nhân làm gia tăng độ ổn định (như sucroza hoặc sorbitol); các tác nhân làm gia tăng trương lực (như halogenua của kim loại kiềm, tốt hơn là natri hoặc kali clorua, manitol sorbitol); các chất dẫn phân phối; các chất pha loãng; các tá dược và/hoặc các chất phụ trợ dược. (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995).

Theo các phương án nhất định, dược phẩm tối ưu sẽ được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này tùy theo, ví dụ, đường dùng dự kiến, dạng phân phối và liều lượng mong muốn. Ví dụ, xem: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, nêu trên. Theo các phương án nhất định, các chế phẩm này có thể có ảnh hưởng đến trạng thái vật lý, độ ổn định, tốc độ giải phóng *in vivo* và tốc độ thanh thải *in vivo* của các kháng thể theo sáng chế.

Theo một khía cạnh, dược phẩm này chứa nồng độ cao của protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, nồng độ ABP nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 250mg/ml, ví dụ, khoảng 70mg/ml, khoảng 80mg/ml, khoảng 90mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 130mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 150mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 170mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 190mg/ml, khoảng 200mg/ml, khoảng 210mg/ml, khoảng 220mg/ml, khoảng 230mg/ml, khoảng 240mg/ml, hoặc khoảng 250mg/ml, và bao gồm tất cả các trị số ở giữa. Theo một số phương án, nồng độ của 21B12, 26H5, hoặc 31H4 nằm trong khoảng từ 100mg/ml đến 150mg/ml, ví dụ, 100mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 130mg/ml, khoảng 140mg/ml, hoặc khoảng 150mg/ml. Theo một số phương án, nồng độ của 8A3, 11F1 hoặc 8A1 nằm trong khoảng từ 140mg/ml đến 220mg/ml, ví dụ, 140mg/ml, khoảng 150mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 170mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 190mg/ml, khoảng 200mg/ml, khoảng 210mg/ml, khoảng 220mg/ml, hoặc khoảng 250mg/ml.

Theo một khía cạnh khác, dược phẩm chứa ít nhất một tác nhân đệm, ví dụ, natri axetat, natri clorua, phosphat, nước muối đệm phosphat ("PBS"), và/hoặc dung dịch đệm Tris có độ pH nằm trong khoảng từ 7,0 đến 8,5. Dung dịch đệm này nhằm để duy trì độ pH thích hợp về mặt sinh lý. Ngoài ra, dung dịch đệm này có thể dùng để làm tăng tính đẳng trương và tính ổn định về mặt hóa học của chế phẩm dược. Theo các phương án nhất định, lượng tác nhân đệm nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 40mM, ví dụ, khoảng 0,05mM, khoảng 0,1mM, khoảng 0,5mM, khoảng 1,0mM, khoảng 5,0mM, khoảng 10mM, khoảng 15mM, khoảng 20mM, khoảng 30mM, khoảng 40mM, khoảng 50mM, khoảng 60mM, khoảng 70mM,

khoảng 80mM, khoảng 90mM, hoặc khoảng 100nM tác nhân đệm, kể cả tất cả các trị số nằm trong khoảng đó. Theo các phương án nhất định, tác nhân đệm là NaOAC. Các độ pH được đưa ra làm ví dụ của dược phẩm này bao gồm độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 6, hoặc nằm trong khoảng từ 4,8 đến 5,8, hoặc nằm trong khoảng từ 5,0 đến 5,2, hoặc khoảng 5, hoặc khoảng 5,2.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này là đẳng trương với nồng độ molal đồng thẩm áp nằm trong khoảng từ 250 miliosmol/kg đến 350 miliosmol/kg, ví dụ, khoảng 250mOsm/kg, khoảng 260mOsm/kg, khoảng 270mOsm/kg, khoảng 280mOsm/kg, khoảng 290mOsm/kg, khoảng 300mOsm/kg, khoảng 310mOsm/kg, khoảng 320mOsm/kg, khoảng 330mOsm/kg, khoảng 340mOsm/kg, hoặc khoảng 350mOsm/kg, và kể cả tất cả các trị số nằm trong khoảng đó. Thuật ngữ "nồng độ molal đồng thẩm áp" được dùng trong bản mô tả này là số đo tỷ lệ giữa các chất hòa tan so với thể tích dịch lỏng. Nói cách khác, đây là số lượng các phân tử và ion (hoặc phân tử) trên mỗi kilogam dung dịch. Nồng độ molal đồng thẩm áp có thể được đo trên thiết bị phân tích được gọi là thẩm thấu kế, như thẩm thấu kế đa mẫu 2020 do Advanced Instruments, Norwood, MA cung cấp (Advanced Instruments 2020 Multi-sample Osmometer, Norwood, MA). Thẩm thấu kế đa mẫu 2020 này của Advanced Instruments đo nồng độ molal đồng thẩm áp bằng cách áp dụng phương pháp làm giảm điểm đông lạnh (Freezing Point Depression). Nồng độ chất thẩm thấu trong dung dịch càng cao, thì nhiệt độ đông lạnh của dung dịch này càng giảm. Nồng độ molal đồng thẩm áp còn có thể được đo bằng cách sử dụng các phương pháp bất kỳ khác và theo các đơn vị khác đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này như ngoại suy tuyến tính.

Theo khía cạnh khác nữa, dược phẩm này chứa ít nhất một chất hoạt động bề mặt gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Polysorbate-80, Polysorbate-60, Polysorbate-40, và Polysorbate-20. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa chất hoạt động bề mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,004% đến 10% trọng lượng trên thể tích ("w/v") của chế phẩm, ví dụ, chất hoạt động bề mặt với lượng khoảng 0,004%, khoảng 0,005%, khoảng 0,006%, khoảng 0,007%, khoảng 0,008%, khoảng 0,009%, khoảng 0,01%, khoảng 0,05%, khoảng 0,1%, khoảng

0,5%, khoảng 1%, khoảng 5%, hoặc khoảng 10% trọng lượng/thể tích của chế phẩm. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa polysorbate 80 ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,004% đến 0,1% trọng lượng/thể tích của chế phẩm. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa polysorbate 20 ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,004% đến 0,1% trọng lượng/thể tích của chế phẩm.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa ít nhất một tác nhân làm ổn định, như polyhyđroxy hyđrocacbon (gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sorbitol, manitol, glyxerol và đulxitol) và/hoặc đisacarit (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sucroza, lactoza, maltoza và trehaloza) và/hoặc axit amin (gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, prolin, arginin, lysin, methionin, và taurin) và/hoặc rượu benzylic; tổng của polyhyđroxy hyđrocacbon và/hoặc đisacarit và/hoặc axit amin và/hoặc rượu benzylic nằm trong khoảng từ 0,5% đến 10% trọng lượng/thể tích của chế phẩm. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 1%, khoảng 2%, khoảng 3%, khoảng 4%, khoảng 5%, khoảng 6%, khoảng 7%, khoảng 8%, khoảng 9% hoặc khoảng 10% sucroza. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 5% sucroza. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 1%, khoảng 2%, khoảng 3%, khoảng 4%, khoảng 5%, khoảng 6%, khoảng 7%, khoảng 8%, khoảng 9% hoặc khoảng 10% sorbital. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 9% sorbital. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 1%, khoảng 2%, khoảng 3%, khoảng 4%, khoảng 5% prolin, arginin, lysin, methionin, và/hoặc taurin. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2% đến 3% prolin. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ bằng khoảng 1%, khoảng 2%, khoảng 3%, khoảng 4%, khoảng 5% rượu benzylic. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa tác nhân làm ổn định ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1% đến 2% rượu benzylic.

Theo một khía cạnh, dược phẩm này có độ nhớt thấp hơn khoảng 30 xentipoa (cP) như được đo ở nhiệt độ trong phòng (tức là 25°C). Thuật ngữ "độ nhớt" được dùng trong bản mô tả này là sức cản dòng chảy của chất lỏng, và có thể là đo được theo đơn vị xentipoa (cP) hoặc milliPascal-giây (mPa-s), trong đó 1cP=1mPa-s, ở tốc độ trượt nhất định. Độ nhớt có thể được đo bằng cách sử dụng nhớt kế, ví dụ, nhớt kế đọc đồng hồ cơ khí Brookfield (Brookfield Engineering Dial Reading Viscometer), mẫu LVT. Độ nhớt còn có thể được đo bằng cách sử dụng các phương pháp bất kỳ khác và theo các đơn vị bất kỳ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, độ nhớt tuyệt đối, động học hoặc động lực học hoặc độ nhớt tuyệt đối). Theo các phương án nhất định, dược phẩm này có độ nhớt thấp hơn khoảng 25cP, khoảng 20cP, khoảng 18cP, khoảng 15cP, khoảng 12cP, khoảng 10cP; khoảng 8cP, khoảng 6cP, khoảng 4cP; khoảng 2cP; hoặc khoảng 1cP.

Theo một khía cạnh, dược phẩm là ổn định như được đo theo ít nhất một thử nghiệm về tính ổn định mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết, như các thử nghiệm đánh giá các tính chất sinh lý và hóa sinh của các protein có hoạt tính sinh học sau một khoảng thời gian. Như nêu trên, dược phẩm ổn định theo sáng chế là dược phẩm chứa các protein có hoạt tính sinh học thể hiện mức độ kết tụ tăng và/hoặc mức hao hụt hoạt tính sinh học giảm không quá 5% khi được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2°C đến 8°C trong thời gian ít nhất là 1 tháng, hoặc 2 tháng, hoặc 3 tháng, hoặc 6 tháng, hoặc 1 năm hoặc 2 năm so với mẫu chế phẩm đối chứng. Theo các phương án nhất định, độ ổn định của dược phẩm được đo bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp loại trừ theo cỡ ("SEC-HPLC"). SEC-HPLC tách các protein trên cơ sở sự chênh lệch về thể tích thủy động lực của chúng. Các phân tử với thể tích các protein thủy động lực học lớn hơn rửa giải ra sớm hơn so với các phân tử có thể tích nhỏ hơn. Trong trường hợp SEC-HPLC, dược phẩm ổn định thể hiện mức tăng các loại có phân tử lượng cao không quá khoảng 5% so với mẫu đối chứng. Theo một số phương án khác, dược phẩm này thể hiện mức tăng các loại phân tử lượng cao không quá khoảng 4%, không quá khoảng 3%, không quá khoảng 2%, không quá khoảng 1%, không quá khoảng 0,5% so với mẫu đối chứng.

Theo các phương án nhất định, độ ổn định của dược phẩm được đo bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp trao đổi cation (CEX-HPLC). CEX-HPLC tách các protein trên cơ sở sự chênh lệch ở điện tích bề mặt của chúng. Ở độ pH đã định, các dạng đồng chức năng tích điện của ABP kháng PCSK9 được tách trên cột trao đổi cation và được rửa giải bằng cách sử dụng muối građien. Dung môi rửa giải được theo dõi theo độ hấp thụ tia cực tím. Mức độ phân bố dạng đồng chức năng tích điện được đánh giá bằng cách xác định diện tích pic của mỗi dạng đồng chức năng theo phần trăm của tổng diện tích pic. Trong trường hợp CEX-HPLC, dược phẩm ổn định thể hiện mức giảm ở pic của dạng đồng chức năng chính không quá khoảng 5% so với mẫu đối chứng. Theo một số phương án khác, dược phẩm ổn định thể hiện mức giảm pic của dạng đồng chức năng chính không quá khoảng từ 3% đến 5% so với mẫu đối chứng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này thể hiện mức giảm ở pic của dạng đồng chức năng chính không quá khoảng 4%, không quá khoảng 3%, không quá khoảng 2%, không quá khoảng 1%, không quá khoảng 0,5% so với mẫu đối chứng.

Theo các phương án nhất định, độ ổn định của dược phẩm được đo bằng cách sử dụng phương pháp dò phần tử bé hơn mức có thể nhìn thấy được bằng cách che khuất ánh sáng (Subvisible Particle Detection by Light Obscuration - "HIAC"). Hệ đếm hạt điện tử chịu nước (HIAC/Royco 9703 hoặc tương đương) chứa bộ cảm biến che khuất ánh sáng (HIAC/Royco HRLD-150 hoặc tương đương) với bộ lấy mẫu lỏng định lượng số lượng các phần tử và khoảng kích thước của chúng trong mẫu thử nghiệm nhất định. Khi các phần tử trong chất lỏng đi qua giữa nguồn ánh sáng và bộ dò thì chúng làm giảm hoặc "che bớt" chùm tia ánh sáng đến bộ dò. Nếu nồng độ của phần tử nằm trong khoảng bình thưởng của bộ cảm biến, thì các phần tử này được dò thấy từng phần tử một. Việc từng phần tử đi qua vùng khu vực dò làm giảm hiện tượng ánh sáng trên bộ dò quang học và điện áp vào bộ dò quang học bị giảm một cách nhất thời. Các thay đổi về điện áp ghi ở dạng xung điện mà được thiết bị chuyển hóa thành số lượng phần tử có mặt. Phương pháp này là không đặc hiệu và đo các phần tử bất kể nguồn gốc của chúng. Kích thước của phần tử được theo dõi thường là 10µm, và 25µm. Trong trường

hợp HIAC, dược phẩm ổn định chứa không quá 6000 phần tử cỡ 10μm trên mỗi vật chứa (hoặc đơn vị), so với mẫu đối chứng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm ổn định nên thể hiện không quá 5000, không quá 4000, không quá 3000, không quá 2000, không quá 1000, phần tử có kích thước 10μm trên mỗi vạt chứa (hoặc đơn vị) so với mẫu đối chứng. Theo các phương án khác nữa, dược phẩm ổn định chứa không quá 600 phần tử có kích thước 25μm trên mỗi vật chứa (hoặc đơn vị) so với mẫu đối chứng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm ổn định chứa không quá 500, không quá 400, không quá 300, không quá 200, không quá 100, không quá 50 phần tử có kích thước 25μm trên mỗi vật chứa (hoặc đơn vị) so với mẫu đối chứng.

Theo các phương án nhất định, độ ổn định của dược phẩm được đo bằng cách đánh giá bằng mắt thường. Cách đánh giá bằng mắt là phương pháp định tính được sử dụng để mô tả các đặc tính vật lý nhìn thấy được của mẫu. Mẫu được quan sát trên nền đen và/hoặc nền trắng của phòng kiểm tra, tùy theo các đặc tính được đánh giá (ví dụ, màu sắc, độ trong, sự có mặt của các phần tử hoặc vật chất lạ). Các mẫu cũng được quan sát trên chuẩn quy chiếu màu trắng sữa và chuẩn quy chiếu màu. Trong trường hợp đánh giá bằng mắt, dược phẩm ổn định không thể hiện sự thay đổi đáng kể nào về màu sắc, độ trong, sự có mặt của các phần tử hoặc vật chất lạ so với mẫu đối chứng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa: (i) khoảng từ 70mg/ml đến 250mg/ml protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9; (ii) khoảng từ 0,05mM đến 40mM chất đệm như natri axetat ("NaOAC") làm tác nhân đệm; (iii) khoảng từ 1% đến 5% prolin, arginin, lysin, methionin, hoặc taurin (còn được gọi là axit 2-aminoetansulfonic) và/hoặc từ 0,5% đến 5% rượu benzylic làm tác nhân làm ổn định; và (iv) khoảng từ 0,004% đến 10% trọng lượng/thể tích chế phẩm chứa chất hoạt động bề mặt không ion (gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Polysorbate-80, Polysorbate-60, Polysorbate-40, và Polysorbate-20); trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,0. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là khoảng 70mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 150mg/ml, khoảng

160mg/ml, khoảng 170mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 190mg/ml, khoảng 200mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii) khoảng 10mM NAOAC; (iii) khoảng 0,01% polysorbate 80; và (iv) khoảng từ 2% đến 3% prolin (hoặc khoảng từ 250mM đến 270mM prolin), trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là khoảng 70mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 140mg/ml kháng thể kháng PCSK9, 21B12, 26H5 và/hoặc 31H4; (ii) khoảng 10mM NAOAC; (iii) khoảng 0,01% polysorbate 80; và (iv) khoảng từ 2% đến 3% prolin (hoặc khoảng từ 250mM đến 270mM prolin), trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là khoảng 150mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 170mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 190mg/ml, khoảng 200mg/ml kháng thể kháng PCSK9, 8A3, 11F1 và/hoặc 8A1; (ii) khoảng 10mM NAOAC; (iii) khoảng 0,01% polysorbate 80; và (iv) khoảng từ 2% đến 3% prolin (hoặc khoảng từ 250mM đến 270mM prolin), trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5.

Theo một khía cạnh của sáng chế, dược phẩm mà chứa (i) ít nhất là khoảng từ 70mg/ml đến 250mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii) khoảng 5mM đến 20mM chất đệm, như NAOAC; (iii) khoảng từ 1% đến 10% trọng lượng/thể tích chế phẩm chứa polyhyđroxy hyđrocacbon như sorbitol hoặc đisacarit như sucroza; và (iv) khoảng từ 0,004% đến 10% trọng lượng/thể tích chế phẩm chứa chất hoạt động bề mặt, như polysorbate 20 hoặc polysorbate 80; trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng 4,8 đến 5,8; và trong đó dược phẩm này tùy ý chứa khoảng từ 80mM đến 300mM prolin, arginin, lysin, methionin, hoặc taurin và/hoặc từ 0,5% đến 5% rượu benzylic dùng để làm giảm độ nhớt. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là từ 70mg/ml đến 250mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii) khoảng 10mM NAOAC; (iii) khoảng 9% sucroza; và (iv) khoảng 0,004% polysorbate 20, trong đó chế phẩm này có độ pH bằng khoảng 5,2. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là khoảng 70mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 200mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii)

khoảng 15mM NAOAC; (iii) khoảng 9% sucroza; và (iv) khoảng 0,01% polysorbate 20, trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5,2. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế chứa (i) ít nhất là khoảng 70mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 200mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii) khoảng 20mM NAOAC; (iii) khoảng 9% sucroza; và (iv) khoảng 0,01% polysorbate 20, trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5,2. Theo một số phương án khác, dược phẩm theo sáng chế bao gồm (i) ít nhất là khoảng 70mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 200mg/ml kháng thể kháng PCSK9; (ii) khoảng 10mM NAOAC; (iii) khoảng 9% sucroza; (iv) khoảng 0,01% polysorbate 80; và (v) khoảng 250mM prolin, trong đó dược phẩm có độ pH bằng khoảng 5.

Các dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng theo phương pháp điều trị kết hợp, tức là kết hợp với các tác nhân khác. Theo các phương án nhất định, phép điều trị kết hợp bao gồm protein liên kết kháng nguyên có khả năng liên kết với PCSK9, kết hợp với ít nhất một tác nhân kháng cholesterol. Các tác nhân gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chế phẩm hóa học, các kháng thể, vùng liên kết kháng nguyên, và các tổ hợp và các thể tiếp hợp của chúng, được điều chế theo cách tổng hợp *in vitro*. Theo các phương án nhất định, tác nhân có thể đóng vai trò làm chất chủ vận, chất đối kháng, chất điều biến dị lập thể, hoặc độc tố. Theo các phương án nhất định, tác nhân có thể đóng vai trò để ức chế hoặc kích thích đích của nó (ví dụ, sự hoạt hóa hoặc ức chế thụ thể hoặc enzym), và bằng cách đó thúc đẩy sự biểu hiện tăng của LDLR hoặc làm giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trước, đồng thời, và sau khi điều trị bệnh bằng tác nhân làm giảm cholesterol (cholesterol trong huyết thanh và/hoặc cholesterol tổng). Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng nhằm mục đích phòng ngừa để ngăn ngừa hoặc giảm nhẹ sự khởi phát tăng cholesterol huyết, bệnh tim, bệnh đái tháo đường, và/hoặc rối loạn bệnh

lý bất kỳ có liên quan đến cholesterol. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng để điều trị tình trạng bệnh lý tăng cholesterol huyết đang có. Theo một số phương án, ABP trì hoãn sự khởi phát của rối loạn và/hoặc các triệu chứng có liên quan đến rối loạn. Theo một số phương án, ABP được cung cấp cho đối tượng không có triệu chứng bất kỳ của rối loạn bất kỳ trong số các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol hoặc phân nhóm của chúng.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng cùng với các tác nhân điều trị bệnh cụ thể để điều trị các rối loạn bệnh lý khác nhau có liên quan đến cholesterol, như chứng tăng cholesterol huyết. Theo các phương án nhất định, tùy theo tình trạng bệnh lý và mức độ điều trị mong muốn, hai, ba, hoặc nhiều tác nhân có thể được dùng. Theo các phương án nhất định, các tác nhân này có thể được cung cấp bằng cách đưa vào cùng một chế phẩm. Theo các phương án nhất định, (các) tác nhân này và protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được cung cấp cùng với nhau bằng cách đưa vào cùng một chế phẩm. Theo các phương án nhất định, các tác nhân này có thể được bào chế riêng rẽ và được cung cấp bằng cách đưa vào kit điều trì. Theo các phương án nhất định, các tác nhân này và protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được bào chế riêng rẽ và được cung cấp cùng với nhau bằng cách đưa vào kit điều trị. Theo các phương án nhất định, các tác nhân này có thể được cung cấp riêng rẽ.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm chứa protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một các tác nhân bổ sung điều trị bệnh, có thể được bào chế để bảo quản bằng cách trộn chế phẩm đã chọn có độ tinh khiết mong muốn với các tác nhân bào chế tùy ý (xem tài liệu: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, nêu trên) ở dạng bánh được sấy khô ở nhiệt độ thấp hoặc dung dịch nước. Ngoài ra, theo các phương án nhất định, chế phẩm chứa protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, có thể được bào chế ở dạng chế phẩm đông khô nhanh bằng cách sử dụng các tá dược thích hợp.

Theo các phương án nhất định, nếu cách dùng ngoài đường tiêu hóa được dự tính, thì chế phẩm điều trị có thể ở dạng dung dịch nước chấp nhận được để dùng ngoài đường tiêu hóa không có chất gây sốt chứa protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 mong muốn, có hoặc không có các tác nhân bổ sung điều trị bệnh, trong chất dẫn dược dụng. Theo các phương án nhất định, chất dẫn để tiêm truyền ngoài đường tiêu hóa là nước vô trùng cất mà protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, được bào chế trong đó ở dạng dung dịch đẳng trương, vô trùng, được bảo quản một cách thích hợp. Theo các phương án nhất định, việc bào chế có thể bao gồm điều chế phân tử mong muốn với tác nhân, như có thể dùng các trung thể có thể tiêm, các phần tử có thể ăn mòn sinh học, các hợp chất polyme (như axit polylactic hoặc axit polyglycolic), hạt hoặc các liposom, mà có thể tạo ra sự giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng chậm cho sản phẩm mà sau đó có thể được phân phối thông qua việc tiêm kéo dài. Theo các phương án nhất định, axit hyaluronic còn có thể được sử dụng, và có thể có tác dụng thúc đẩy khoảng thời gian ổn định trong tuần hoàn. Theo các phương án nhất định, các thiết bị phân phối thuốc có thể cấy ghép có thể được sử dụng để đưa phân tử mong muốn vào.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm có thể được bào chế để xông. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, có thể được bào chế ở dạng bột khô để xông. Theo các phương án nhất định, dung dịch xông chứa protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, có thể được bào chế cùng với chất đẩy để phân phối sol khí. Theo các phương án nhất định, dung dịch có thể được khí dung. Cách dùng qua đường phổi được bộc lộ chi tiết hơn trong công bố đơn quốc tế số PCT/US94/001875, mô tả cách phân phối trong phổi các protein đã được cải biến về mặt hóa học.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm có thể bao gồm lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, trong hỗn hợp với các tá dược không độc mà là

thích hợp cho việc bào chế viên nén. Theo các phương án nhất định, bằng cách hòa tan viên nén trong nước vô trùng, hoặc chất dẫn thích hợp khác, dung dịch có thể được bào chế thành dạng liều đơn vị. Theo các phương án nhất định, các tá dược thích hợp gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất pha loãng trơ, như canxi cacbonat, natri cacbonat hoặc bicacbonat, lactoza, hoặc canxi phosphat; hoặc các tác nhân liên kết, như tinh bột, gelatin, hoặc gôm acacia; hoặc các tác nhân làm trơn như magie stearat, axit stearic, hoặc bột talc.

Các dược phẩm bổ sung là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các chế phẩm chứa các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, trong các chế phẩm phân phối chậm hoặc có kiểm soát. Theo các phương án nhất định, các kỹ thuật bào chế các dạng phân phối chậm hoặc có kiểm soát khác, như các chất mang liposom, vi phần tử hoặc hạt xốp có thể ăn mòn sinh học và các dạng tiêm kéo dài, cũng đã được biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem công bố đơn sáng chế quốc tế số PCT/US93/00829 mô tả việc giải phóng có kiểm soát các vi phần tử polyme xốp để phân phối dược phẩm. Theo các phương án nhất định, các chế phẩm giải phóng chậm có thể bao gồm nền polyme bán thấm ở dạng các vật thể đã được định hình, ví dụ màng, hoặc viên vi nang. Các nền giải phóng chậm có thể bao gồm polyeste, hyđrogel, polylactit (U.S. 3,773,919 và EP 058,481), copolyme của axit L-glutamic và gama etyl-L-glutamat (Sidman *et al.*, *Biopolymers*, 22:547-556 (1983)), poly (2-hyđroxyetyl-metacrylat) (Langer *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 15:167-277 (1981) và Langer, *Chem. Tech.*, 12:98-105 (1982)), etylen vinyl axetat (xem tài liệu: Langer *et al.*, nêu trên) hoặc axit poly-D(-)-3-hyđroxybutyric (EP 133,988). Theo các phương án nhất định, chế phẩm giải phóng chậm còn có thể chứa các liposom, mà có thể được điều chế theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem: Eppstein *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688-3692 (1985); EP 036,676; EP 088,046 và EP 143,949.

Dược phẩm để dùng *in vivo* thường là vô trùng. Theo các phương án nhất định, điều này có thể đạt được bằng cách lọc qua màng lọc vô trùng. Theo các

phương án nhất định, khi chế phẩm được đông khô nhanh, việc vô trùng bằng cách sử dụng phương pháp này có thể được thực hiện trước hoặc sau khi đông khô nhanh và hoàn nguyên. Theo các phương án nhất định, chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được bảo quản ở dạng đã được đông kho nhanh hoặc trong dung dịch. Theo các phương án nhất định, các chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa thường được đưa vào vật chứa có cửa nạp vô trùng, ví dụ, túi hoặc lọ đựng dung dịch để dùng trong tĩnh mạch có nút mà kim tiêm dưới da có thể xuyên qua được.

Theo các phương án nhất định, ngay khi được bào chế, dược phẩm có thể được bảo quản trong các lọ vô trùng ở dạng dung dịch, huyền phù, gel, nhũ tương, rắn, hoặc ở dạng bột đã được loại nước hoặc đông khô nhanh. Theo các phương án nhất định, các chế phẩm này có thể được bảo quản ở dạng sẵn sàng để dùng ngay hoặc ở dạng được hoàn nguyên trước khi dùng (ví dụ, được đông khô nhanh).

Theo các phương án nhất định, sau khi được bào chế, dược phẩm có thể được bảo quản trong ống tiêm chứa sẵn thuốc ở dạng dung dịch hoặc huyền phù ở dạng sẵn sàng để dùng ngay.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất bộ kit cung cấp đơn vị dùng một liều. Theo các phương án nhất định, bộ kit này có thể chứa cả vật chứa thứ nhất có protein đã được sấy khô và vật chứa thứ hai có chế phẩm nước. Theo các phương án nhất định, bộ kit chứa ống tiêm chứa sẵn thuốc trong một khoang và nhiều khoang (ví dụ, ống tiêm chứa chất lỏng và ống tiêm chứa dung môi) được bao gồm.

Theo các phương án nhất định, lượng hữu hiệu dược phẩm chứa protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, được dùng cho mục đích điều trị sẽ phụ thuộc, ví dụ, vào bối cảnh điều trị và mục đích điều trị. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được rằng liều lượng thích hợp để điều trị, theo một số khía cạnh, sẽ phụ thuộc, một phần, vào phân tử được phân phối, chỉ định dùng protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9, có hoặc không có ít nhất một tác nhân điều trị bệnh bổ sung, đường dùng, và số đo (thể trọng, diện tích thân thể hoặc kích thước

cơ quan) và/hoặc tình trạng bệnh lý (độ tuổi và tình trạng sức khỏe chung) của bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, bác sỹ có thể căn chuẩn liều lượng và thay đổi đường dùng để đạt được hiệu quả điều trị bệnh tối ưu.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm có thể được dùng khu trú thông qua việc cấy dưới da màng, vật xốp hoặc nguyên liệu thích hợp khác mà phân tử mong muốn đã được hấp thụ hoặc bao nang vào đó. Theo các phương án nhất định, nếu dùng thiết bị cấy dưới da, thì thiết bị này có thể được cấy dưới da vào mô hoặc cơ quan thích hợp bất kỳ, và sự phân phối phân tử mong muốn có thể diễn ra thông qua hiện tượng khuếch tán, tiêm tĩnh mạch nhanh giải phóng định thời, hoặc dùng liên tục.

Liều lượng và phác đồ liều

Protein bất kỳ trong số các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được thể hiện trong Bảng 2 và Fig. 2 và/hoặc Fig. 3 và/hoặc Fig. 48A và Fig. 48B có thể được dùng cho bệnh nhân theo các phương pháp theo sáng chế. Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 bao gồm 21B12, 26H5, 31H4, 8A3, 11F1 hoặc 8A1.

Nói chung, lượng protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 (ví dụ, kháng thể kháng PCSK9) được dùng cho bệnh nhân theo các phương pháp theo sáng chế, nói chung, là lượng hữu hiệu điều trị bệnh. Lượng ABP có thể được biểu hiện theo miligam kháng thể (tức là, mg) hoặc miligam kháng thể cho mỗi kilogam thể trọng của bệnh nhân (tức là mg/kg). Theo các phương án nhất định, liều lượng thông thường của protein liên kết kháng nguyên PCSK9 có thể nằm trong khoảng từ 0,1μg/kg đến 100mg/kg hoặc nhiều protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9. Theo các phương án nhất định, liều lượng có thể nằm trong khoảng từ 0,1μg/kg đến 100mg/kg; hoặc từ 1μg/kg đến 100mg/kg; hoặc từ 5μg/kg đến 100mg/kg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9; hoặc từ 1mg/kg đến 50mg/kg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9; hoặc từ 2mg/kg đến 20mg/kg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9; hoặc từ 2mg/kg đến 10mg/kg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 .

Theo các phương án nhất định, lượng (hoặc liều lượng) protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể nằm trong khoảng ít nhất là từ 10mg đến 1400mg; hoặc nằm trong khoảng từ 14mg đến 1200mg; hoặc nằm trong khoảng từ 14mg đến 1000mg; hoặc nằm trong khoảng từ 14mg đến 800mg; hoặc nằm trong khoảng từ 14mg đến 700mg; hoặc nằm trong khoảng từ 14mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 20mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 70mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 80mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 90mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 100mg đến 480mg, hoặc nằm trong khoảng từ 105mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 110mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 115mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 120mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 125mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 130mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 135mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 140mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 145mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 150mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 160mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 170mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 180mg đến 480mg hoặc nằm trong khoảng từ 190mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 200mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 210mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 220mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 230mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 240mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 250mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 260mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 270mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 280mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 290mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 300mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 310mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 320mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 330mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 340mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 350mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 360mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 370mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 380mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 390mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 400mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 410mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 420mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 430mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 440mg đến

480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 450mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 460mg đến 480mg; hoặc nằm trong khoảng từ 470mg đến 480mg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9.

Theo các phương án nhất định, tần suất dùng liều có tính đến các thông số dược động học của protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 và/hoặc các tác nhân điều trị bệnh bổ sung bất kỳ trong chế phẩm được dùng. Theo các phương án nhất định, bác sỹ sẽ cho dùng chế phẩm cho đến liều lượng đạt được tác dụng mong muốn. Do đó, theo các phương án nhất định, chế phẩm có thể được dùng một liều đơn nhất, hoặc dưới dạng hai, ba, bốn hoặc nhiều liều (mà có thể chứa hoặc không chứa cùng lượng phân tử mong muốn) sau một khoảng thời gian, hoặc ở dạng truyền liên tục thông qua thiết bị cấy dưới da hoặc ống thông. Dược phẩm còn có thể được phân phối dưới da hoặc trong tĩnh mạch bằng kim và ống tiêm chuẩn. Ngoài ra, đối với sự phân phối dưới da, các thiết bị phân phối dạng bút, cũng như các thiết bị phân phối tự tiêm, có các ứng dụng trong việc phân phối dược phẩm theo sáng chế. Việc cải tiến tiếp liều lượng thích hợp thường được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này và nằm trong phạm vi các công việc mà họ thực hiện. Theo các phương án nhất định, các liều lượng thích hợp có thể được xác định thông qua việc sử dụng các thông tin đáp ứng-liều lượng thích hợp. Theo một số phương án, lượng và tần suất dùng có thể xem xét đến hàm lượng cholesterol mong muốn (trong huyết thanh và/hoặc tổng số) cần đạt được và hàm lượng cholesterol, hàm lượng LDL, và/hoặc hàm lượng LDLR hiện có ở đối tượng, tất cả có thể thu được theo các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này đã biết.

Theo các phương án nhất định, liều lượng ít nhất là khoảng 10mg; hoặc lên đến khoảng 14mg; hoặc lên đến khoảng 20mg; hoặc lên đến khoảng 35mg; hoặc lên đến khoảng 40mg, hoặc lên đến khoảng 45mg, hoặc lên đến khoảng 50mg; hoặc lên đến khoảng 70mg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng mỗi tuần một lần (QW) cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo một số phương án khác, liều lượng ít nhất là khoảng 70mg, hoặc lên đến khoảng 100mg; hoặc lên đến khoảng 105mg, hoặc lên đến khoảng 110mg;

hoặc lên đến khoảng 115mg, hoặc lên đến khoảng 120mg; hoặc lên đến khoảng 140mg; hoặc lên đến khoảng 160mg; hoặc lên đến khoảng 200mg; hoặc lên đến khoảng 250mg; hoặc lên đến khoảng 280mg; hoặc lên đến khoảng 300mg; hoặc lên đến khoảng 350mg; hoặc lên đến khoảng 400mg; hoặc lên đến khoảng 420mg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng cách tuần, (hoặc hai tuần một lần) (Q2W), cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

In một số phương án khác, liều lượng ít nhất là khoảng 250mg; hoặc lên đến khoảng 280mg; hoặc lên đến khoảng 300mg; hoặc lên đến khoảng 350mg; hoặc lên đến khoảng 400mg; hoặc lên đến khoảng 420mg; hoặc lên đến khoảng 450mg; hoặc lên đến khoảng 480mg protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng bốn tuần một lần, (hoặc mỗi tháng một lần), cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được

làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 15%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 20%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 25%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol

LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng

10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%, so với hàm lượng trước liều của cholesterol LDL trong huyết thanh, và mức giảm này được ổn định trong thời gian ít nhất là khoảng 3 ngày, ít nhất là khoảng 5 ngày, ít nhất là khoảng 7 ngày, ít nhất là khoảng 10 ngày, ít nhất là khoảng 14 ngày, ít nhất là khoảng 21 ngày, ít nhất là khoảng 25 ngày, ít nhất là khoảng 28 ngày, hoặc ít nhất là khoảng 31 ngày so với hàm lượng trước liều.

Các ứng dụng điều trị nhất định

Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, các rối loạn bệnh lý có liên quan, bao hàm, hoặc có bị ảnh hưởng bởi hàm lượng cholesterol thay đổi, LDL, LDLR, PCSK9, VLDL-C, apoprotein B ("ApoB"), lipoprotein A ("Lp(a)"), triglyxerit, HDL-C, hàm lượng cholesterol

không có HDL-C, và hàm lượng cholesterol tổng có thể được đề cập đến liên quan đến các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 đã được bộc lộ trong sáng chế. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng cholesterol trong huyết thanh tăng cao hoặc rối loạn trong đó hàm lượng cholesterol trong huyết thanh tăng cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn mà liên quan đến các trị số PCSK9 tăng cao hoặc rối loạn mà trong đó các trị số PCSK9 cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng cholesterol tăng cao tổng số hoặc rối loạn trong đó hàm lượng cholesterol tăng cao tổng số có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng cholesterol không có HDL tăng cao hoặc rối loạn trong đó hàm lượng cholesterol không có HDL tăng cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn mà liên quan đến hàm lượng ApoB tăng cao hoặc rối loạn trong đó hàm lượng ApoB tăng cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng Lp(a) tăng cao hoặc trong đó hàm lượng Lp(a) tăng cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng triglyxerit tăng cao hoặc trong đó hàm lượng triglyxerit tăng cao có liên quan. Theo một khía cạnh, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng trong các phương pháp để điều trị

và/hoặc ngăn ngừa và/hoặc làm giảm nguy cơ rối loạn liên quan đến hàm lượng VLDL-C tăng cao hoặc rối loạn trong đó hàm lượng VLDL-C tăng cao có liên quan.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh ở bệnh nhân. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để làm giảm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo các phương án nhất định, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol LDL trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến trị số PCSK9 trong huyết thanh ở bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 là có tác dụng trung hòa. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với

PCSK9 được dùng để làm giảm các trị số PCSK9 từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 85%. Theo một số phương án, trị số PCSK9 trong huyết thanh được làm giảm ít nhất là khoảng 90%.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến tổng hàm lượng cholesterol ở bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 là có tác dụng trung hòa. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để làm giảm lượng tổng lượng cholesterol từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, tổng hàm lượng cholesterol được làm giảm ít nhất là khoảng 60%.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến hàm lượng cholesterol không có HDL ở bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 là có tác dụng trung hòa. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết

với PCSK9 được dùng để làm giảm cholesterol không có HDL từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 75%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 80%. Theo một số phương án, hàm lượng cholesterol không có HDL được làm giảm ít nhất là khoảng 85%.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến hàm lượng ApoB ở bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 là có tác dụng trung hòa. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để làm giảm lượng ApoB từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít

nhất là khoảng 65%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 70%. Theo một số phương án, hàm lượng ApoB được làm giảm ít nhất là khoảng 75%.

Theo một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều biến hàm lượng Lp(a) ở bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 là có tác dụng trung hòa. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để làm giảm lượng Lp(a) từ hàm lượng cao bất thường hoặc ngay cả từ hàm lượng bình thường. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 5%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 10%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 15%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 20%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 25%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 35%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 40%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 45%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 55%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, hàm lượng Lp(a) được làm giảm ít nhất là khoảng 65%.

Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 theo sáng chế có thể được dùng nhằm mục đích điều trị để điều trị và/hoặc ngăn ngừa các rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol. Theo một số phương án, thuật ngữ "rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol" (bao gồm cả "rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol trong huyết thanh") bao gồm một hoặc nhiều rối loạn bệnh lý bất kỳ trong số các rối loạn bệnh lý dưới đây: chứng tăng cholesterol huyết di truyền, chứng tăng cholesterol huyết không di truyền, chứng tăng lipit huyết, bệnh tim, hội

chứng chuyển hóa, bệnh đái tháo đường, bệnh tim mạch vành, chứng đột quỵ, các bệnh tim mạch, bệnh Alzheimer và rối loạn mỡ máu nói chung, mà có thể được biểu hiện, ví dụ, ở tổng mức cholesterol trong huyết thanh tăng cao, LDL tăng cao, triglyxerit tăng cao, VLDL tăng cao, và/hoặc HDL thấp. Một vài ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về các rối loạn mỡ máu nguyên phát và thứ phát mà có thể điều trị được bằng cách sử dụng ABP, riêng lẻ, hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân khác, bao gồm hội chứng chuyển hóa, bệnh tiểu đường, chứng tăng lipit huyết di truyền, bệnh tăng triglyxerit trong máu di truyền, chứng tăng cholesterol huyết di truyền, bao gồm chứng tăng cholesterol huyết dị hợp tử, chứng tăng cholesterol huyết đồng hợp tử, chứng apoplipoprotein B-100 lỗi di truyền; chứng tăng cholesterol huyết đa gen; bệnh do tăng thừa lipoprotein huyết, chứng thiếu hụt lipaza ở gan; rối loạn mỡ máu thứ phát sau bất kỳ trong các tác nhân dưới đây: thiếu cân nhắc về mặt ăn uống, giảm năng tuyến giáp, điều trị bằng các thuốc bao gồm estrogen và progestin, các chất phong bế beta, và thuốc lợi tiểu thiazit; hội chứng hư thận, bệnh suy thận mãn tính, hội chứng Cushing, bệnh xơ mật nguyên phát, bệnh do dự trữ glycogen, bệnh ung thư gan, chứng ứ mật, bệnh to cực, u đảo tụy, thiếu hụt hormon sinh trưởng phân lập, và chứng tăng triglyxerit trong máu do rượu gây ra. ABP còn có thể là hữu dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh xơ vữa động mạch, ví dụ, tử vong do tim mạch, tử vong không do tim mạch hoặc tử vong do mọi nguyên nhân, bệnh tim mạch vành, bệnh động mạch vành, bệnh động mạch ngoại biên, đột quỵ (thiếu máu cục bộ và xuất huyết), chứng đau thắt ngực, hoặc bệnh mạch máu não và hội chứng mạch vành cấp tính, chứng nhồi máu cơ tim và chứng đau thắt ngực không ổn định. Theo một số phương án, ABP là hữu dụng trong việc làm giảm nguy cơ của: bệnh đau tim gây tử vong và bệnh đau tim không gây tử vong, chứng đột quỵ gây tử vong và chứng đột quỵ không gây tử vong, một số loại phẫu thuật tim nhất định, nhập viện do suy tim, chứng đau ngực ở các bệnh nhân mắc bệnh tim, và/hoặc các biến cố tim mạch do bệnh tim đã mắc như đau tim trước đó, phẫu thuật tim trước đó, và/hoặc chứng đau ngực có dấu hiệu tắc động mạch và/hoặc bệnh mạch có liên quan đến cấy ghép. Theo một số phương án, ABP là hữu dụng trong việc phòng ngừa hoặc làm

giảm nguy cơ đối với tim mạch do CRP hoặc hsCRP tăng cao. Theo một số phương án, ABP và các phương pháp có thể được sử dụng để làm giảm nguy cơ tái phát các biến cố tim mạch.

Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, các bệnh hoặc rối loạn bệnh lý mà thường được nhắc đến (có thể điều trị được hoặc ngăn ngừa được) thông qua việc sử dụng statin, cũng có thể được hỗ trợ nhờ sử dụng các protein liên kết kháng nguyên khẩn cấp. Ngoài ra, theo một số phương án, các rối loạn bệnh lý hoặc bệnh, mà có thể được hỗ trợ nhờ ngăn ngừa sự tổng hợp cholesterol hoặc biểu hiện LDLR tăng, cũng có thể được điều trị bằng các protein liên kết kháng nguyên theo các phương án khác nhau. Ngoài ra, như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, việc sử dụng các kháng thể kháng PCSK9 có thể được áp dụng đặc biệt để điều trị bệnh đái tháo đường. Bệnh đái tháo đường không chỉ là yếu tố nguy cơ đối với bệnh tim mạch vành, mà insulin còn làm tăng mức biểu hiện của PCSK9. Tức là người mắc bệnh đái tháo đường có hàm lượng lipit trong huyết tương tăng (mà nó có thể có liên quan đến hàm lượng PCSK9 cao) và có thể được hỗ trợ bằng cách hạ thấp các nồng độ đó. Điều này đã được bàn luận chi tiết hơn trong tài liệu: Costet et al. ("*Hepatic PCSK9 Expression Regulated by Nutritional Status via Insulin and Sterol Regulatory Element-binding Protein 1C*", *J. Biol. Chem.*, 281: 6211-6218, 2006), mà được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên được dùng cho các đối tượng mắc bệnh đái tháo đường, chứng phình động mạch chủ bất thường, chứng xơ vữa động mạch và/hoặc bệnh mạch ngoại vi để làm giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh của họ đến khoảng an toàn hơn. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên được dùng cho các bệnh nhân có nguy cơ tiến triển rối loạn bất kỳ trong số các rối loạn đã được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, ABP được dùng cho đối tượng hút thuốc, hoặc đã từng hút thuốc (tức là người trước đây đã hút thuốc), có tiền sử cao huyết áp hoặc tiền sử gia đình có người bị bệnh đau tim sớm.

Theo một số phương án, đối tượng được cho dùng ABP nếu họ có nguy cơ vừa phải hoặc có nguy cơ cao hơn đối với các đích điều trị NCEP 2004. Theo một số phương án, ABP được dùng cho đối tượng nếu hàm lượng cholesterol LDL của đối tượng cao hơn 160mg/dl. Theo một số phương án, ABP được dùng nếu hàm lượng cholesterol LDL của đối tượng là cao hơn 130 (và họ có nguy cơ vừa phải hoặc có nguy cơ cao đối với các đích điều trị NCEP 2004). Theo một số phương án, ABP được dùng nếu hàm lượng cholesterol LDL của đối tượng là cao hơn 100 (và họ có nguy cơ cao hoặc rất cao đối với các đích điều trị NCEP 2004). Theo một số phương án, ABP được dùng nếu hàm lượng cholesterol LDL của đối tượng là cao hơn 80mg/dl. Theo một số phương án, ABP được dùng nếu hàm lượng cholesterol LDL của đối tượng là cao hơn 70mg/dl.

Bác sỹ sẽ có thể lựa chọn các chỉ định điều trị thích hợp và hàm lượng lipit đích tùy theo profin riêng của từng bệnh nhân. Tiêu chuẩn đã được chấp nhận chung để hướng dẫn điều trị chứng tăng lipit huyết là Báo cáo Thứ ba của Hội đồng chuyên gia của Chương trình Giáo dục Quốc gia về Cholesterol (National Cholesterol Education Program - NCEP) về việc phát hiện, đánh giá, và điều trị chứng cholesterol cao trong máu ở người lớn (Hội đồng điều trị người lớn III (Adult Treatment Panel III)) Báo cáo Tổng kết, Viện sức khỏe quốc gia (National Institutes of Health), công bố NIH số 02-5215 (2002), công bố đã in này được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều trị hoặc ngăn ngừa chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu và/hoặc để bào chế thuốc cho các bệnh đó và/hoặc cho các rối loạn bệnh lý khác có liên quan đến cholesterol (như đã nêu trên). Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng để điều trị hoặc ngăn ngừa các tình trạng bệnh lý như chứng tăng cholesterol huyết, trong đó hoạt tính PCSK9 là bình thường. Trong các tình trạng bệnh lý này, ví dụ, việc làm giảm hoạt tính PCSK9 đến mức thấp hơn bình thường có thể mang lại tác dụng điều trị bệnh.

Điều trị kết hợp

Theo các phương án nhất định, các phương pháp được đề xuất để điều trị rối loạn bệnh lý có liên quan đến cholesterol, như chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipit huyết hoặc rối loạn mỡ máu, bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của một hoặc nhiều protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 và dược chất để điều trị bệnh khác. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng trước khi dùng ít nhất một tác nhân điều trị bệnh khác. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng đồng thời với việc dùng ít nhất một tác nhân điều trị bệnh khác. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được dùng sau khi dùng ít nhất một tác nhân điều trị bệnh khác.

Các tác nhân điều trị bệnh (ngoài protein liên kết kháng nguyên), gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ít nhất một tác nhân khác làm giảm cholesterol (cholesterol trong huyết thanh và/hoặc cholesterol tổng trong toàn bộ cơ thể). Theo một số phương án, tác nhân làm tăng mức độ biểu hiện của LDLR, đã được quan sát thấy để làm tăng hàm lượng HDL trong huyết thanh, làm giảm hàm lượng LDL hoặc làm giảm hàm lượng triglyxerit. Các tác nhân được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, statin (atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, lovastatin, mevastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin, simvastatin), axit nicotinic (Niaxin) (NIACOR, NIASPAN (niaxin giải phóng chậm), SLO-NIAXIN (niaxin giải phóng chậm), CORDAPTIVE (laropiprant)), axit fibric (LOPID (Gemfibrozil), TRICOR (fenofibrat), tác nhân càng hóa axit mật (QUESTRAN (cholestyramin), colesevelam (WELCHOL), COLESTID (colestipol)), các chất ức chế sự hấp thụ cholesterol (ZETIA (ezetimit)), kết hợp axit nicotinic với statin (ADVICOR (LOVASTATIN và NIASPAN), kết hợp statin với chất ức chế sự hấp thụ (VYTORIN (ZOCOR và ZETIA) và/hoặc các tác nhân cải biến lipit. Theo một số phương án, ABP được kết hợp với các chất chủ vận PPAR gama, các chất chủ vận PPAR alpha/gama, các chất ức chế squalen synthaza, các chất ức chế CETP, chất trị tăng huyết áp, các tác nhân tác nhân trị đái tháo (như sulphonyl ure, insulin, các chất tương tự GLP-1, các chất ức chế DDPIV, ví dụ, metaformin), các chất

điều biến ApoB, như mipomersan, chất ức chế MTP và/hoặc các chất điều trị chứng xơ cứng động mạch tắc. Theo một số phương án, ABP được kết hợp với tác nhân mà làm tăng hàm lượng của protein LDLR ở đối tượng, như statin, một số xytokin nhất định giống oncostatin M, estrogen, và/hoặc một số thành phần thảo dược nhất định như berberin. Theo một số phương án, ABP được kết hợp với tác nhân mà làm tăng hàm lượng cholesterol trong huyết thanh ở đối tượng (như một số tác nhân chống rối loạn tâm thần, chất ức chế HIV proteaza nhất định, một số thành phần ăn kiêng như fructoza, sucroza, cholesterol hoặc một số axit béo hàm lượng cao và một số chất chủ vận và chất đối kháng thụ thể nhân nhất định đối với RXR, RAR, LXR, FXR). Theo một số phương án, ABP được kết hợp với tác nhân mà làm tăng hàm lượng của PCSK9 ở đối tượng, như statin và/hoặc insulin. Việc kết hợp hai thành phần này có thể cho phép ABP làm dịu các tác dụng phụ không mong muốn của các tác nhân khác.

Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng với ít nhất một tác nhân điều trị bệnh viêm. Theo các phương án nhất định, protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 có thể được dùng với ít nhất một tác nhân điều trị rối loạn miễn dịch. Các tác nhân điều trị bệnh viêm và các rối loạn miễn dịch được đưa ra làm ví dụ gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất ức chế xyclooxygenaza typ 1 (COX-1) và xyclooxygenaza typ 2 (COX-2), các chất điều biến phân tử nhỏ của protein kinaza được hoạt hóa bằng tác nhân gây phân bào 38 kDa (p38-MAPK); các chất điều biến phân tử nhỏ của các phân tử nội bào có liên quan đến con đường viêm, trong đó các phân tử nội bào này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, jnk, IKK, NF-κB, ZAP70, và lck. Một số tác nhân điều trị bệnh được nêu làm ví dụ được bộc lộ, chẳng hạn trong tài liệu: C.A. Dinarello & L.L. Moldawer *Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis: A Primer for Clinicians* Third Edition (2001) Amgen Inc. Thousand Oaks, CA.

Các ứng dụng chẩn đoán

Theo một số phương án, ABP được sử dụng làm công cụ chẩn đoán. ABP có thể được dùng để thử nghiệm lượng PCSK9 có mặt trong mẫu và/hoặc đối tượng. Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, các ABP này không cần là các ABP làm trung hòa. Theo một số phương án, ABP chẩn đoán không là ABP trung hòa. Theo một số phương án, ABP chẩn đoán liên kết với biểu vị khác với biểu vị mà ABP trung hòa liên kết. Theo một số phương án, hai ABP này không cạnh tranh nhau.

Theo một số phương án, các ABP đã được bộc lộ trong bản mô tả này được sử dụng hoặc được cung cấp trong bộ kit thử nghiệm và/hoặc phương pháp phát hiện PCSK9 ở mô hoặc tế bào của động vật có vú để sàng lọc/chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến các thay đổi về hàm lượng PCSK9. Bộ kit này chứa ABP mà liên kết với PCSK9 và dùng để biểu thị liên kết của ABP với PCSK9, nếu có, và tùy ý cả hàm lượng của protein PCSK9. Các cách khác nhau để biểu thị sự có mặt của ABP có thể được sử dụng. Ví dụ, nhóm huỳnh quang, các mẫu dò phân tử khác, hoặc enzym có thể được liên kết với ABP và sự có mặt của ABP có thể quan sát được theo nhiều cách. Phương pháp sàng lọc các rối loạn này có thể bao gồm việc sử dụng bộ kit, hoặc đơn giản là sử dụng một trong số các ABP đã được bộc lộ và việc xác định xem liệu ABP có liên kết với PCSK9 trong mẫu hay không. Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, hàm lượng cao hoặc tăng cao của PCSK9 sẽ làm cho lượng lớn hơn của ABP liên kết với PCSK9 trong mẫu. Do đó, mức độ liên kết của ABP có thể được dùng để xác định có bao nhiêu PCSK9 trong mẫu. Các đối tượng hoặc các mẫu có lượng PCSK9 cao hơn lượng định trước (ví dụ, lượng hoặc khoảng có ở người không mắc rối loạn liên quan đến PCSK9) có thể được coi là mắc rối loạn do PCSK9 gây ra. Theo một số phương án, ABP được dùng cho đối tượng dùng statin, để xác định xem liệu statin có làm tăng lượng PCSK9 ở đối tượng hay không.

Theo một số phương án, ABP là ABP không trung hòa và được dùng để xác định lượng PCSK9 ở đối tượng được điều trị bằng ABP và/hoặc statin.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây, bao gồm các thử nghiệm được thực hiện và các kết quả đạt được, được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa sáng chế và không nên hiểu là nhằm mục đích giới hạn sáng chế.

VÍ DỤ 1

Gây miễn dịch và chuẩn độ

Sự tạo ra các kháng thể kháng PCSK9 và khối lai

Các kháng thể kháng dạng thành thục của PCSK9 (được mô tả dưới dạng trình tự nêu trên Fig. 1A, với miền proprotein (pro-domain) được gạch chân), được nuôi ở chuột nhắt XenoMouse® (Abgenix, Fremont, CA), là chuột nhắt chứa gen globulin miễn dịch của người. Hai nhóm gồm chuột nhắt XenoMouse®, nhóm 1 và 2, được sử dụng để tạo ra các kháng thể liên kết với PCSK9. Nhóm 1 bao gồm chuột nhắt thuộc chủng XMG2-KL XenoMouse®, tạo ra các kháng thể IgG2$_\kappa$ và IgG2λ đầy đủ của người. Chuột nhắt nhóm 1 được gây miễn dịch bằng PCSK9 của người. PCSK9 được điều chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp tiêu chuẩn bằng cách sử dụng trình tự GenBank làm quy chiếu (NM_174936). Nhóm 2 bao gồm chuột nhắt thuộc chủng XMG4-KL XenoMouse®, tạo ra các kháng thể IgG4$_\kappa$ và IgG4λ đầy đủ của người. Chuột nhắt nhóm 2 còn được gây miễn dịch bằng PCSK9 của người.

Chuột nhắt của cả hai nhóm đều được tiêm kháng nguyên mười một lần, theo lịch trình trong Bảng 3. Trong các lần gây miễn dịch ban đầu, mỗi con chuột được tiêm tổng cộng 10µg kháng nguyên được phân phối trong màng bụng vào trong bụng. Các lần nhắc lại sau đó là các liều 5ug và phương pháp tiêm được xen kẽ giữa các lần tiêm trong màng bụng vào trong bụng và các lần tiêm dưới da ở gốc đuôi. Đối với các lần tiêm trong màng bụng, kháng nguyên được tạo ra dưới dạng nhũ tương với TiterMax® Gold (Sigma, Cat # T2684) và đối với các lần tiêm dưới da, kháng nguyên được trộn với phèn (nhôm phosphat) và CpG oligos. Các lần tiêm từ 2 đến 8 và 10, mỗi con chuột nhắt được tiêm tổng cộng 5µg kháng nguyên trong gel tá dược phèn. Lần tiêm sau cùng gồm 5µg kháng nguyên/con chuột nhắt được phân phối vào nước muối đệm Phospho và được phân phối vào 2

vị trí 50% IP vào trong bụng và 50% SQ ở gốc đuôi. Chương trình gây miễn dịch được tổng kết trong Bảng 3, được thể hiện dưới đây.

BẢNG 3

Nhóm	1	2
chủng chuột nhắt	XMG2/kl	XMG4/kl
# của con vật	10	10
tác nhân gây miễn dịch	PCSK9-V5/His	PCSK9-V5/His
nhắc lại lần thứ 1	tiêm IP mỗi lần 10ug	tiêm IP mỗi lần 10ug
	Titermax Gold	Titermax Gold
nhắc lại lần thứ 2	tiêm đuôi mỗi lần 5ug	tiêm đuôi mỗi lần 5ug
	Alum/CpG ODN	Alum/CpG ODN
nhắc lại lần thứ 3	Tiêm IP mỗi lần 5ug	Tiêm IP mỗi lần 5ug
	Titermax Gold	Titermax Gold
nhắc lại lần thứ 4	tiêm đuôi mỗi lần 5ug	tiêm đuôi mỗi lần 5ug
	Alum/CpG ODN	Alum/CpG ODN
nhắc lại lần thứ 5	Tiêm IP mỗi lần 5ug	Tiêm IP mỗi lần 5ug
	Titermax Gold	Titermax Gold
nhắc lại lần thứ 6	tiêm đuôi mỗi lần 5ug	tiêm đuôi mỗi lần 5ug
	Alum/CpG ODN	Alum/CpG ODN
nhắc lại lần thứ 7	Tiêm IP mỗi lần 5ug	Tiêm IP mỗi lần 5ug
	Titermax Gold	Titermax Gold
nhắc lại lần thứ 8	tiêm đuôi mỗi lần 5ug	tiêm đuôi mỗi lần 5ug
	Alum/CpG ODN	Alum/CpG ODN
lấy máu		

nhắc lại lần thứ 9	Tiêm IP mỗi lần 5ug	Tiêm IP mỗi lần 5ug
	Titermax Gold	Titermax Gold
nhắc lại lần thứ 10	tiêm đuôi mỗi lần 5ug	tiêm đuôi mỗi lần 5ug
	Alum/CpG ODN	Alum/CpG ODN
nhắc lại lần thứ 11	BIP mỗi lần 5ug	BIP mỗi lần 5ug
	PBS	PBS
thu mẫu		

Phương pháp chuẩn được sử dụng để chuẩn độ các con vật XenoMouse là như sau: các đĩa liên kết môi trường Costar 3368 được phủ bằng neutravadin ở 8ug/ml (50ul/lỗ) và ủ ở 4°C trong 1XPBS/0,05% azit qua đêm. Rửa các đĩa bằng cách sử dụng phương pháp rửa ba vòng TiterTek bằng nước thẩm thấu ngược (RO). Phong bế các đĩa bằng cách sử dụng 250ul 1XPBS/1% sữa và ủ trong ít nhất 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Rửa sạch chất phong bế bằng cách sử dụng phương pháp rửa ba vòng TiterTek bằng nước thẩm thấu ngược (RO). Sau đó, b-PCSK9 của người được thu ở 2ug/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca2+ (chất pha loãng thử nghiệm) 50ul/lỗ và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa bằng cách sử dụng phương pháp rửa ba vòng TiterTek bằng nước thẩm thấu ngược (RO). Đối với kháng thể sơ cấp, huyết thanh được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ tỷ lệ 1:100. Việc này được thực hiện trong chất pha loãng thử nghiệm 50ul/lỗ và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa bằng cách sử dụng phương pháp rửa 3 vòng TiterTek bằng nước thẩm thấu ngược. Kháng thể phụ là HRP kháng IgG Fc của người ở dê ở 400ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm ở 50ul/lỗ. Ủ kháng thể này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa bằng bằng cách sử dụng phương pháp rửa 3 vòng TiterTek bằng nước thẩm thấu ngược và được vỗ nhẹ khô trên khăn giấy. Đối với cơ chất, dung dịch TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) được sử dụng (50ul/lỗ) và để cho phát triển trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng.

Các phương pháp chuẩn sau đây trong các thử nghiệm ELISA là như sau: Đối với các mẫu chứa b-PCSK9 mà không chứa V5His tag, quy trình sau đây được sử dụng: Các đĩa liên kết môi trường Costar 3368 (Corning Life Sciences) được sử dụng. Phủ các đĩa này bằng neutravadin ở 8µg/ml trong 1XPBS/0,05%Azit, (50µl/lỗ). Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek M384 (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 250µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa M384. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. b-PCSK9 của người được thu, mà không cần V5 tag, và được bổ sung ở 2µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} (40µl/lỗ). Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Chuẩn độ huyết thanh ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ tỷ lệ 1:100, và hàng H là trống đối với huyết thanh. Việc chuẩn độ được thực hiện trong chất pha loãng thử nghiệm, ở thể tích bằng 50µl/lỗ. Ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, bước rửa 3 vòng được thực hiện. Bổ sung kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng Fc IgG của người ở 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} (50µl/lỗ) vào đĩa này và ủ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này một lần nữa, bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Sau đó, vỗ khô các đĩa này bằng khăn giấy. Cuối cùng, bổ sung TMB 1 bước (Neogen, Lexington, Kentucky) (50µl/lỗ) vào đĩa này và được làm dừng bằng 1N axit clohyđric (50µl/lỗ) sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek.

Các đối chứng dương để phát hiện đĩa liên kết PCSK9 là thụ thể LDL có thể hòa tan (R&D Systems, Cat #2148LD/CF) và kháng thể đa dòng của thỏ kháng PCSK9 (Caymen Chemical #10007185) được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ 3µg/ml trong chất pha loãng thử nghiệm. LDLR được phát hiện bằng kháng thể liên hợp với HRP của thỏ kháng Fc IgG của dê và kháng LDLR của dê (R&D Systems, Cat #AF2148) ở nồng độ 400ng/ml; kháng thể đa dòng của thỏ được phát hiện bằng kháng thể của dê kháng Fc IgG của thỏ ở nồng độ 400ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm. Đối chứng âm là huyết thanh XMG2-KL và XMG4-KL

chưa qua thử nghiệm được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ 1:100 trong chất pha loãng thử nghiệm.

Đối với các mẫu chứa b-PCSK9 với V5His tag, phương pháp chuẩn sau đây được sử dụng: Các đĩa liên kết môi trường Costar 3368 (Corning Life Sciences) được sử dụng. Phủ các đĩa này bằng neutravadin ở 8µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit, (50µl/lỗ). Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek M384 (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 250µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa M384. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. b-PCSK9 của người được thu, với V5 tag, và được bổ sung ở 2µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} (40µl/lỗ). Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Chuẩn độ huyết thanh ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ tỷ lệ 1:100, và hàng H là trống đối với huyết thanh. Việc chuẩn độ được thực hiện trong chất pha loãng thử nghiệm, ở thể tích bằng 50µl/lỗ. Ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa M384 được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Bổ sung kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng Fc IgG của người ở 400ng/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở 50µl/lỗ vào đĩa này và đĩa này được ủ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này một lần nữa, bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Sau đó, vỗ khô các đĩa này bằng khăn giấy. Cuối cùng, bổ sung TMB 1 bước (Neogen, Lexington, Kentucky) (50µl/lỗ) vào đĩa này và đĩa này được làm dừng bằng 1N axit clohyđric (50µl/lỗ) sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek.

Đối chứng dương là LDLR, kháng thể kháng PCSK9 của thỏ được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ 3µg/ml trong chất pha loãng thử nghiệm. Phát hiện LDLR bằng kháng thể liên hợp với HRP của thỏ kháng Fc IgG của dê và kháng LDLR của dê (R&D Systems, Cat #AF2148) ở nồng độ 400ng/ml; kháng thể đa dòng của thỏ được phát hiện bằng kháng thể của dê kháng Fc IgG của thỏ ở nồng độ 400ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm. Kháng thể kháng His 1.2.3 và

kháng V5 1.7.1 của người được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ 1µg/ml trong chất pha loãng thử nghiệm; cả hai kháng thể này đều được phát hiện bằng kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng Fc IgG của người ở nồng độ 400ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm. Đối chứng âm là huyết thanh XMG2-KL và XMG4-KL chưa qua thử nghiệm được chuẩn độ ở tỷ lệ 1:3 lặp lại 2 lần từ tỷ lệ 1:100 trong chất pha loãng thử nghiệm.

Các độ chuẩn của kháng thể kháng PCSK9 của người được thử nghiệm bằng thử nghiệm ELISA đối với chuột nhắt được gây miễn dịch bằng kháng nguyên hòa tan như được mô tả. Bảng 4 tổng kết dữ liệu ELISA và cho thấy rằng có một số con chuột nhắt mà đã được xuất hiện là đặc hiệu với PCSK9. Ví dụ, xem: Bảng 4. Do đó, khi kết thúc chương trình gây miễn dịch, 10 con chuột nhắt (chữ in đậm trong bảng 4) được chọn lọc để thu mẫu và phân lập các tế bào lá lách và tế bào bạch huyết lần lượt từ lá lách và hạch bạch huyết, như được bộc lộ trong bản mô tả này.

BẢNG 4

Bảng tổng kết các kết quả ELISA

		Độ chuẩn	Độ chuẩn
	Số nhận dạng động vật	b-PCSK9 của người (V5His) ở 2ug/ml	b-PCSK9 của người ở 2ug/ml
Nhóm 1 - IgG2k/l	P175807	>72900 ở OD 2,2	68359
	P175808	>72900 ở OD 2,3	>72900 ở OD 2,5
	P175818	>72900 ở OD 3,2	**>72900 ở OD 3,0**
	P175819	>72900 ở OD 3,4	**>72900 ở OD 3,2**
	P175820	>72900 ở OD 2,4	>72900 ở OD 2,5
	P175821	>72900 ở OD 3,4	**>72900 ở OD 3,0**
	P175830	>72900 ở OD 2,6	>72900 ở OD 2,5

	Số nhận dạng động vật	Độ chuẩn b-PCSK9 của người (V5His) ở 2ug/ml	Độ chuẩn b-PCSK9 của người ở 2ug/ml
	P175831	>72900 ở OD 3,1	**>72900 ở OD 3,1**
	P175832	>72900 ở OD 3,8	**>72900 ở OD 3,6**
	P175833	>72900 ở OD 2,6	>72900 ở OD 2,3
Nhóm 2 - IgG4k/l	P174501	19369	17109
	P174503	31616	**23548**
	P174508	48472	**30996**
	P174509	23380	21628
	P174510	15120	9673
	P175773	19407	15973
	P175774	54580	**44424**
	P175775	60713	**55667**
	P175776	30871	**22899**
	P175777	16068	12532
	G2 chưa qua thử nghiệm	< 100 ở OD 0,54	< 100 ở OD 0,48
	G4 chưa qua thử nghiệm	< 100 ở OD 1,57	< 100 ở OD 1,32

VÍ DỤ 2

Thu hồi tế bào bạch huyết, thể phân lập tế bào B, thể dung hợp và tạo ra khối lai

Ví dụ này chỉ ra cách mà tế bào miễn dịch được thu hồi và các khối lai được tạo ra. Chuột nhắt đã được gây miễn dịch có lựa chọn được cho chết trợ tử bằng cách vặn cổ và thu gom hạch bạch huyết dẫn lưu và được gom từ mỗi nhóm họ gần. Tách các tế bào B ra khỏi mô bạch huyết bằng cách nghiền trong DMEM để giải phóng các tế bào ra khỏi mô và tạo huyền phù các tế bào trong DMEM. Đếm các tế bào này và bổ sung 0,9ml DMEM/100 triệu tế bào bạch huyết vào viên kết tế bào để tạo huyền phù lại các tế bào một cách nhẹ nhàng nhưng không hoàn toàn.

Tế bào bạch huyết được trộn với tế bào u tủy không kích thích bài tiết P3X63Ag8.653 được mua từ ATCC, Cat #CRL 1580 (Kearney *et al.*, (1979) *J. Immunol.* 123, 1548-1550) ở tỷ lệ 1:4. Tạo viên kết một cách nhẹ nhàng hỗn hợp tế bào bằng cách ly tâm ở 400 x g trong 4 phút. Sau khi gạn dịch nổi bề mặt, trộn một cách nhẹ nhàng các tế bào bằng cách sử dụng pipet 1ml. Bổ sung từ từ dung dịch PEG/DMSO được gia nhiệt trước từ Sigma (cat# P7306) (1ml/triệu tế bào B) kèm lắc nhẹ trong 1 phút tiếp theo là trộn 1 phút. Sau đó, bổ sung IDMEM được gia nhiệt trước (2ml/triệu tế bào B) (DMEM không có glutamin, L-glutamin, pen/strep, các axit amin không thiết yếu của MEM (tất cả do Invitrogen cung cấp), vào trong thời gian 2 phút kèm lắc nhẹ. Cuối cùng, bổ sung IDMEM được gia nhiệt trước (8ml/10^6 tế bào B) vào trong thời gian 3 phút.

Quay tế bào đã được dung hợp xuống 400 x g 6 phút và tạo huyền phù lại trong 20ml môi trường chọn lọc (DMEM (do Invitrogen cung cấp), 15% FBS (Hyclone), có bổ sung L-glutamin, pen/strep, axit amin không thiết yếu của MEM, natri Pyruvat, 2-Mercaptoetanol (tất cả do Invitrogen cung cấp), HA-Azaserin Hypoxanthin và OPI (oxaloaxetat, pyruvat, insulin của bò) (cả hai cùng do Sigma cung cấp) và IL-6 (do Boehringer Mannheim cung cấp))/triệu tế bào B. Ủ các tế bào trong từ 20 đến 30 phút ở 37°C và sau đó tạo huyền phù lại trong 200ml môi trường chọn lọc và nuôi cấy trong từ 3 đến 4 ngày trong bình thót cổ T175 trước khi dàn trên đĩa 96 lỗ. Do đó, các khối lai mà tạo ra các protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 được tạo ra.

VÍ DỤ 3

Chọn lọc các kháng thể kháng PCSK9

Ví dụ này chỉ ra cách mà các protein liên kết kháng nguyên PCSK9 khác nhau được xác định tính chất và được chọn lọc. Đánh giá mức độ liên kết của các kháng thể đã được tiết ra (được tạo ra từ các khối lai được tạo ra trong các Ví dụ 1 và 2) liên kết với PCSK9. Việc chọn lọc các kháng thể dựa trên cơ sở dữ liệu liên kết và ức chế sự liên kết của PCSK9 với LDLR và ái lực. Phân tích sự liên kết với PCSK9 hòa tan bằng ELISA, như được mô tả dưới đây. BIAcore® (cộng hưởng plasmon bề mặt) được dùng để định lượng ái lực liên kết.

Sàng lọc sơ cấp

Việc sàng lọc sơ cấp đối với các kháng thể mà liên kết với PCSK9 loại dại được thực hiện. Việc sàng lọc sơ cấp được thực hiện trên hai lần thu mẫu. Việc sàng lọc sơ cấp bao gồm thử nghiệm ELISA và được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp chuẩn sau đây:

Các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life Sciences) được sử dụng. Phủ các đĩa này bằng neutravadin ở nồng độ 4µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit, ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này. Một lần nữa, bước rửa 3 vòng được thực hiện. Mẫu thu giữ là PCSK9 có gắn biotin, mà không cần V5 tag, và được bổ sung vào ở 0,9µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Chuyển 10µl dịch nổi bề mặt vào 40µl 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} và ủ 1,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Một lần nữa, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Bổ sung 40µl/lỗ kháng thể liên hợp với POD của dê kháng Fc IgG của người ở nồng độ 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} vào đĩa này và ủ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này một lần nữa, bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric được thực hiện sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek.

Việc sàng lọc sơ cấp làm cho tổng cộng 3104 khối lai đặc hiệu kháng nguyên được nhận dạng từ hai lần thu mẫu. Trên cơ sở OD ELISA cao nhất, đặt trước 1500 khối lai/lần thu mẫu đối với tổng cộng 3000 đối chứng dương.

Sàng lọc để xác nhận

Sau đó, 3000 đối chứng dương được sàng lọc lại để liên kết với PCSK9 loại dại để xác nhận các khối lai ổn định được thiết lập. Việc sàng lọc được thực hiện như sau: các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life Sciences) được sử dụng. Phủ các đĩa này bằng neutravadin ở 3µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa M384. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Mẫu thu giữ là b-PCSK9, mà không cần V5 tag, và được bổ sung vào ở 0,9µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở thể tích 40µl/lỗ. Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Chuyển 10µl dịch nổi bề mặt vào 40µl 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} và ủ 1,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Một lần nữa, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Bổ sung 40µl/lỗ kháng thể liên hợp với POD của dê kháng Fc IgG của người ở nồng độ 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} vào đĩa và ủ đĩa này 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này một lần nữa, bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và được làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek. Tổng cộng 2441 đối chứng dương được lặp lại trong lần sàng lọc thứ hai. Sau đó, các kháng thể này được dùng trong các lần sàng lọc tiếp theo.

Sàng lọc khả năng phản ứng chéo của chuột nhắt

Nhóm các khối lai sau đó được sàng lọc về khả năng phản ứng chéo với PCSK9 của chuột nhắt để tạo ra một số kháng thể có thể liên kết với cả PCSK9 của người và chuột nhắt. Phương pháp sau đây được sử dụng trong sàng lọc khả năng phản ứng chéo: Các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life

Sciences) được sử dụng. Phủ các đĩa này bằng neutravadin ở 3µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Mẫu thu giữ là PCSK9 của chuột nhắt có gắn biotin và được bổ sung vào ở 1µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở thể tích bằng 40 µl/lỗ. Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Chuyển 50µl dịch nổi bề mặt sang các đĩa này và ủ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Một lần nữa, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Bổ sung 40µl/lỗ kháng thể liên hợp với POD của dê kháng Fc IgG của người ở nồng độ 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} vào đĩa này và ủ đĩa này 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này một lần nữa, bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và được làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek. 579 kháng thể được theo dõi phản ứng chéo với PCSK9 của chuột nhắt. Sau đó, các kháng thể này được dùng trong các lần sàng lọc tiếp theo.

Sàng lọc khả năng liên kết với thể đột biến D374Y

Đột biến D374Y trong PCSK9 đã được dẫn chứng bằng tài liệu trong quần thể người (ví dụ, Timms KM et al, "A mutation in PCSK9 causing autosomal-dominant hypercholesterolemia in a Utah pedigree", Hum. Genet. 114: 349-353, 2004). Để xác định xem liệu các kháng thể có là đặc hiệu với loại dại hoặc có được liên kết với dạng D374Y của PCSK9 không, sau đó, các mẫu được sàng lọc để liên kết với trình tự PCSK9 đột biến chứa D374Y đột biến. Phương pháp chuẩn để sàng lọc là như sau: Các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life Sciences) được sử dụng trong phương pháp sàng lọc này. Phủ các đĩa này bằng

neutravadin ở 4µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit ở thể tích 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phủ các đĩa này bằng PCSK9 D374Y của người có gắn biotin ở nồng độ 1µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mMCa^{2+} và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Pha loãng dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy khối lai thải muộn ở tỷ lệ 1:5 trong PBS/sữa/Ca^{2+} (10ml cộng với 40ml) và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, chuẩn độ 40µl/lỗ kháng thể của thỏ kháng His 1.2.3 của người và kháng PCSK9 của người (Cayman Chemical) ở tỷ lệ 1:2 ở 1ug/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mMCa^{2+} trên các đĩa, mà sau đó được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Bổ sung 40µl/lỗ kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng Fc IgG của người ở nồng độ 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} vào đĩa này và ủ đĩa này 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 40µl/lỗ kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng Fc IgG của thỏ ở nồng độ 100ng/ml (theo tỷ lệ 1:4000) trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} vào đĩa này và ủ đĩa này 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và được làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek. Tìm ra trên 96% đối chứng dương trên PCSK9 loại dại liên kết với PCSK9 đột biến.

Sàng lọc sự phong bế phối tử thụ thể trên quy mô lớn

Để sàng lọc các kháng thể phong bế PCSK9 liên kết với LDLR, thử nghiệm được phát triển bằng cách sử dụng thể đột biến PCSK9 D374Y. Thể đột biến này được sử dụng cho thử nghiệm bởi vì nó có ái lực liên kết lớn hơn với LDLR cho

phép thử nghiệm phong bế phối tử thụ thể nhạy hơn được phát triển. Phương pháp sau đây được sử dụng trong sàng lọc sự phong bế phối tử thụ thể: Các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life Sciences) được sử dụng trong phương pháp sàng lọc này. Phủ các đĩa này bằng kháng thể kháng LDLR của dê (R&D Cat #AF2148) ở 2µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Mẫu thu giữ là LDLR (R&D, Cat #2148LD/CF), và được bổ sung vào ở 0,4µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ và 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đồng thời, ủ 20ng/ml PCSK9 D374Y có gắn biotin của người bằng 15 microlit dịch nổi bề mặt thải muộn chứa khối lai trong các đĩa Nunc polypropylen và pha loãng nồng độ dịch nổi bề mặt thải muộn ở tỷ lệ 1:5. Sau đó, ủ trước các đĩa này trong khoảng 1 giờ và 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Chuyển 50µl/lỗ hỗn hợp đã ủ trước vào các đĩa ELISA được phủ LDLR và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Để phát hiện b-PCSK9 được liên kết LDLR, bổ sung 40µl/lỗ streptavidin HRP ở 500ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm vào các đĩa này. Ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa này lại lần nữa bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và được làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek. 384 kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc mà phong bế sự tương tác giữa PCSK9 và lỗ LDLR, 100 kháng thể phong bế sự tương tác một cách mạnh mẽ (OD < 0,3). Các kháng thể này ức chế sự tương tác liên kết của PCSK9 và LDLR lớn hơn 90% (sự ức chế lớn hơn 90%).

Thử nghiệm sự liên kết phối tử thụ thể đối với tập hợp con chất phong bế

Sau đó, thử nghiệm phối tử thụ thể được lặp lại bằng cách sử dụng thể đột biến enzym đối với tập hợp con gồm 384 thành viên của chất làm trung hòa được nhận dạng trong thử nghiệm ức chế phối tử thụ thể trên quy mô lớn lần thứ nhất. Phương pháp chuẩn tương tự được sử dụng trong thử nghiệm sàng lọc tập hợp con chất phong bế 384 thành viên như được thực hiện trong phương pháp sàng lọc phong bế phối tử thụ thể trên quy mô lớn. Việc sàng lọc lặp lại này xác nhận dữ liệu sàng lọc ban đầu.

Việc sàng lọc tập hợp con gồm 384 thành viên nhận dạng 85 kháng thể mà phong bế sự tương tác giữa thể đột biến enzym PCSK9 và LDLR lớn hơn 90%.

Thử nghiệm liên kết phối tử thụ thể của chất phong bế mà liên kết với PCSK9 loại dại nhưng không liên kết với thể đột biến D374Y

Trong nhóm ban đầu gồm 3000 kháng thể trên đây, có 86 kháng thể thể hiện liên kết đặc hiệu với PCSK9 loại dại và không liên kết với thể đột biến huPCSK9(D374Y). Có 86 kháng thể trên đây được thử nghiệm về khả năng phong bế PCSK9 loại dại liên kết với thụ thể LDLR. Phương pháp sau đây được sử dụng: Các đĩa 384 lỗ liên kết môi trường Costar 3702 (Corning Life Sciences) được sử dụng trong sàng lọc. Phủ các đĩa này bằng kháng thể kháng His 1.2.3 ở 10µg/ml trong 1XPBS/0,05% Azit ở thể tích bằng 40µl/lỗ. Ủ các đĩa này ở 4°C qua đêm. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek (do Titertek, Huntsville, AL cung cấp). Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Phong bế các đĩa này bằng 90µl 1XPBS/1% sữa và ủ khoảng 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. LDLR (R&D Systems, #2148LD/CF hoặc R&D Systems, #2148LD) được bổ sung ở 5µg/ml trong 1XPBS/1% sữa/10mM Ca^{2+} ở thể tích 40µl/lỗ. Sau đó, ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek được hoạt động bằng cách sử dụng bước rửa 3 vòng. Đồng thời, ủ trước PCSK9 loại dại có gắn biotin của người bằng dịch nổi bề mặt thải muộn chứa khối lai trong các đĩa Nunc polypropylen. Chuyển 22µl khối lai trên đây vào 33ul b-PCSK9 ở nồng độ 583ng/ml trong 1XPBS/1%

sữa/10mMCa2+, thu được nồng độ b-PCSK9 cuối cùng = 350ng/ml và dịch nổi bề mặt thải muộn ở lần pha loãng cuối cùng ở tỷ lệ 1:2,5. Ủ trước các đĩa này trong khoảng 1 giờ và 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Chuyển 50µl/lỗ hỗn hợp được ủ trước vào các đĩa ELISA được thu giữ LDLR và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Bổ sung 40µl/lỗ streptavidin HRP ở 500ng/ml trong chất pha loãng thử nghiệm vào các đĩa này. Ủ các đĩa này trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, rửa các đĩa này bằng cách sử dụng dụng cụ rửa đĩa Titertek. Bước rửa 3 vòng được thực hiện. Cuối cùng, bổ sung 40µl/lỗ TMB một bước (Neogen, Lexington, Kentucky) vào đĩa này và được làm dừng bằng 40µl/lỗ 1N axit clohyđric sau 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đọc OD ngay lập tức ở 450nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa Titertek.

Các kết quả sàng lọc

Trên cơ sở kết quả của các thử nghiệm được mô tả, một vài dòng khối lai được nhận dạng do tạo ra các kháng thể có các tương tác mong muốn với PCSK9. Sự pha loãng giới hạn được sử dụng để phân lập số lượng dòng vô tính có thể quản lý được từ mỗi dòng. Các dòng vô tính này được gọi tên bằng số dòng khối lai (ví dụ, 21B12) và số dòng vô tính (ví dụ, 21B12.1). Nói chung, không có sự khác nhau trong số các dòng vô tính khác nhau của dòng cụ thể được phát hiện bởi các thử nghiệm chức năng được bộc lộ trong bản mô tả này. Trong một vài trường hợp, các dòng vô tính được nhận dạng từ dòng cụ thể mà được đối xử một cách khác nhau trong thử nghiệm chức năng, ví dụ, 25A7.1 không được phát hiện phong bế PCSK9/LDLR nhưng có phong bế 25A7.3 (được gọi là 25A7 trong bản mô tả sáng chế này) là trung hòa. Mỗi dòng vô tính đã được phân lập được mở rộng trong từ 50 đến 100ml môi trường chứa khối lai và cho phép phát triển đến hoàn toàn, (tức là nhỏ hơn khoảng 10% khả năng sống của tế bào). Nồng độ và hiệu lực của các kháng thể liên kết với PCSK9 trong dịch nổi bề mặt chứa các giống cấy được xác định bằng ELISA và thử nghiệm chức năng *in vitro*, như được bộc lộ trong bản mô tả này. Là kết quả của việc sàng lọc được bộc lộ trong bản mô tả này, các khối lai

có độ chuẩn lớn nhất của các kháng thể liên kết với PCSK9 được nhận dạng. Khối lai đã được chọn lọc được thể hiện trên các Fig. 2A đến 3D và Bảng 2.

VÍ DỤ 4.1

Sản xuất kháng thể 31H4 IgG4 từ các khối lai

Ví dụ này minh họa làm thế nào một trong số các protein liên kết kháng nguyên được sản xuất từ dòng khối lai. Việc sản xuất sử dụng 50ml dịch nổi bề mặt thải ra tiếp theo là tinh chế protein A. Sự sản xuất kết hợp là trên quy mô lớn và thực hiện sau. Dòng khối lai 31H4 được sinh trưởng trong các bình thót cổ T75 trong 20ml môi trường (Môi trường tổng hợp, Bảng 5). Khi khối lai gần hợp dòng trong các bình T75, thì nó được chuyển sang bình tổng hợp (Integra Biosciences, Integra CL1000, cat# 90 005).

Bình tổng hợp là bình nuôi cấy tế bào mà chia màng thành hai buồng, một buồng nhỏ và một buồng lớn. Thể tích của từ 20 đến 30ml tế bào lai ở tỷ trọng tế bào tối thiểu là $1x10^6$ tế bào/ml từ dòng khối lai 31H4 được đặt trong buồng nhỏ của bình tổng hợp trong môi trường tổng hợp (xem Bảng 5 với các thành phần của môi trường tổng hợp). Riêng môi trường tổng hợp (1L) được đặt trong các buồng lớn của bình tổng hợp. Màng tách riêng hai buồng có thể thấm các chất dinh dưỡng có phân tử lượng nhỏ nhưng không thấm các tế bào lai và các kháng thể được tạo ra bởi các tế bào đó. Do đó, các tế bào lai và các kháng thể được tạo ra bởi các tế bào lai này được giữ lại trong buồng nhỏ.

Sau một tuần, môi trường được loại bỏ ra khỏi cả hai buồng của bình tổng hợp và thay thế bằng môi trường tổng hợp mới. Môi trường được thu gom từ các buồng nhỏ được giữ lại riêng rẽ. Sau tuần sinh trưởng thứ hai, môi trường từ buồng nhỏ lại được thu gom. Môi trường đã được thu gom từ tuần 1 từ dòng khối lai được kết hợp với môi trường được thu gom từ tuần 2 từ dòng khối lai. Mẫu môi trường được gom thu được từ dòng khối lai được quay để loại bỏ tế bào và các mảnh vụn (15 phút ở 3000 vòng/phút) và dịch nổi bề mặt thu được được lọc (0,22µm). Môi trường có điều kiện đã được phân loại được nạp lên trên cột protein A-Sepharoza. Tùy ý, môi trường này trước tiên được cô và sau đó được nạp lên trên cột protein

A Sepharoza. Các liên kết không đặc hiệu được loại bỏ bằng cách rửa PBS kéo dài. Các protein kháng thể được liên kết trên cột protein A được thu hồi bằng cách rửa giải kháng thể axit chuẩn từ các cột Protein A (như 50mm xitrat, độ pH=3,0). Các protein kháng thể đã được kết tụ trong nhóm protein A Sepharoza được loại bỏ bằng sắc ký loại trừ kích thước hoặc sắc ký trao đổi ion liên kết trên nhựa trao đổi anion như nhựa Q Sepharoza. Các điều kiện IEX đặc trưng đối với các protein 31H4 là Q-Sepharoza HP ở độ pH nằm trong khoảng từ 7,8 đến 8,0. Kháng thể được rửa giải bằng građien NaCl nằm trong khoảng từ 10mm đến 500mm trong 25 thể tích cột.

BẢNG 5

Thành phần của môi trường

Môi trường tổng hợp
HSFM
10% huyết thanh IgG cực thấp
2mmol/L L-glutamin
1% NEAA
4g/l glucoza

VÍ DỤ 4.2

Sản xuất các kháng thể IgG2 của người 31H4 tái tổ hợp từ các tế bào đã được chuyển nhiễm

Ví dụ này minh họa làm thế nào kháng thể 31H4 IgG2 được sản xuất từ các tế bào đã được chuyển nhiễm. 293 tế bào để biểu hiện tạm thời và tế bào CHO để biểu hiện ổn định được chuyển nhiễm với các plasmit mà ghi mã chuỗi nặng và nhẹ 31H4. Môi trường có điều kiện từ các tế bào đã được chuyển nhiễm được thu hồi bằng cách loại bỏ tế bào và các mảnh vỡ tế bào. Môi trường có điều kiện đã được phân loại được nạp lên trên cột protein A-Sepharoza. Tùy ý, môi trường trước tiên có thể được cô và sau đó nạp lên trên cột protein A Sepharoza. Các liên kết không đặc hiệu được loại bỏ bằng cách rửa PBS kéo dài. Các protein kháng thể

được liên kết trên cột protein A được thu hồi bằng cách rửa giải kháng thể axit chuẩn từ cột Protein A (như 50mm xitrat, độ pH=3,0). Các protein kháng thể đã được kết tụ trong nhóm protein A Sepharoza được loại bỏ bằng sắc ký loại trừ kích thước hoặc sắc ký trao đổi ion liên kết trên nhựa trao đổi anion như nhựa Q Sepharoza. Các điều kiện IEX cụ thể đối với các protein 31H4 là Q-Sepharoza HP ở độ pH nằm trong khoảng từ 7,8 đến 8,0. Kháng thể được rửa giải bằng građien NaCl nằm trong khoảng từ 10mm đến 500mm trong 25 thể tích cột.

VÍ DỤ 5

Sản xuất kháng thể 21B12 IgG4 của người từ các khối lai

Ví dụ này minh họa làm thế nào kháng thể 21B12 IgG4 được sản xuất từ các khối lai. Dòng khối lai 21B12 được sinh trưởng trong các bình T75 trong môi trường (Môi trường tổng hợp, Bảng 5). Khi các khối lai gần hợp dòng trong các bình T75, chúng được chuyển sang các bình tổng hợp (Integra Biosciences, Integra CL1000, cat# 90 005).

Bình tổng hợp là bình nuôi cấy tế bào mà chia màng thành hai buồng, một buồng nhỏ và một buồng lớn. Thể tích của từ 20 đến 30ml tế bào khối lai ở tỷ trọng tế bào tối thiểu là $1x10^6$ tế bào/ml từ dòng khối lai 31H4 được đặt trong buồng nhỏ của bình tổng hợp trong môi trường tổng hợp (xem Bảng 5 với các thành phần của môi trường tổng hợp). Riêng môi trường tổng hợp (1L) được đặt trong buồng lớn của các bình tổng hợp. Màng tách riêng hai buồng có thể thấm các chất dinh dưỡng có phân tử lượng nhỏ nhưng không thấm các tế bào lai và các kháng thể được tạo ra bởi các tế bào đó. Do đó, các tế bào lai và các kháng thể được tạo ra bởi các tế bào lai này được giữ lại trong buồng nhỏ.

Sau một tuần, môi trường được loại bỏ ra khỏi cả hai buồng của bình tổng hợp và thay thế bằng môi trường tổng hợp mới. Môi trường được thu gom từ các buồng nhỏ được giữ lại riêng rẽ. Sau tuần sinh trưởng thứ hai, môi trường từ buồng nhỏ lại được thu gom. Môi trường đã được thu gom từ tuần 1 từ dòng khối lai được kết hợp với môi trường được thu gom từ tuần 2 từ dòng khối lai. Mẫu môi trường được gom thu được từ dòng khối lai được quay để loại bỏ các tế bào và mảnh vụn (15 phút ở 3000 vòng/phút) và dịch nổi bề mặt thu được được lọc (0,22 μm). Môi

trường có điều kiện đã được phân loại được nạp lên trên cột protein A Sepharoza. Tùy ý, môi trường này trước tiên được cô và sau đó được nạp lên trên cột protein A Sepharoza. Các liên kết không đặc hiệu được loại bỏ bằng cách rửa PBS kéo dài. Các protein kháng thể được liên kết trên protein cột protein A được thu hồi bằng cách rửa giải kháng thể axit chuẩn từ các cột Protein A (như 50mm xitrat, độ pH=3,0). Các protein kháng thể đã được kết tụ trong nhóm protein A Sepharoza được loại bỏ bằng sắc ký loại trừ kích thước hoặc sắc ký trao đổi ion liên kết trên nhựa trao đổi anion như nhựa Q Sepharoza. Các điều kiện IEX đặc trưng đối với protein 21B12 là Q-Sepharoza HP ở độ pH nằm trong khoảng từ 7,8 đến 8,0. Kháng thể được rửa giải bằng građien NaCl từ 10mm đến 500mm trong 25 thể tích cột.

VÍ DỤ 6

Sản xuất kháng thể 21B12 IgG2 của người từ các tế bào được chuyển nhiễm

Ví dụ minh họa làm thế nào kháng thể 21B12 IgG2 được sản xuất từ các tế bào đã được chuyển nhiễm. Các tế bào (293 tế bào để biểu hiện tạm thời và tế bào CHO để biểu hiện ổn định) được chuyển nhiễm với các plasmit mà ghi mã chuỗi nặng và chuỗi nhẹ 21B12. Môi trường có điều kiện từ các tế bào lai được thu hồi bằng cách loại bỏ tế bào và mảnh vụn tế bào. Môi trường có điều kiện đã được phân loại được nạp lên trên cột protein A-Sepharoza. Tùy ý, môi trường trước tiên được cô và sau đó nạp lên trên cột protein A Sepharoza. Các liên kết không đặc hiệu được loại bỏ bằng cách rửa PBS kéo dài. Các protein kháng thể được liên kết trên protein cột được thu hồi bằng cách rửa giải kháng thể axit chuẩn từ các cột Protein A (50mm xitrat, độ pH=3,0). Các protein kháng thể đã được kết tụ trong nhóm protein A Sepharoza được loại bỏ bằng cách sắc ký loại trừ kích thước hoặc sắc ký trao đổi ion liên kết trên nhựa trao đổi cation như nhựa SP-Sepharoza. Các điều kiện IEX đặc trưng đối với protein 21B12 là SP-Sepharoza HP ở độ pH=5,2. Các kháng thể được rửa giải bằng 25 thể tích cột của dung dịch đệm mà chứa građien NaCl nằm trong khoảng từ 10mm đến 500mm trong 20mM dung dịch đệm natri axetat.

VÍ DỤ 7

Phân tích trình tự kháng thể nặng và chuỗi nhẹ

Các trình tự axit axit nucleic và amin đối với chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các kháng thể nêu trên được xác định bằng cách giải trình tự nucleotit Sanger (điđeoxy). Sau đó, các trình tự axit amin được suy ra đối với các trình tự axit nucleic. Các trình tự axit nucleic đối với các miền thay đổi được thể hiện trên các Fig. 3E-3JJ.

Các trình tự ADN bổ trợ đối với các vùng thay đổi của chuỗi nhẹ lamda của 31H4, 21B12, và 16F12 được xác định và bộc lộ lần lượt là SEQ ID NO: 153, 95, và 105.

Các trình tự ADN bổ trợ đối với các vùng thay đổi chuỗi nặng của 31H4, 21B12, và 16F12 được xác định và lần lượt bộc lộ là SEQ ID NO: 152, 94, và 104.

Vùng ổn định chuỗi nhẹ lamda (SEQ ID NO: 156), và các vùng ổn định chuỗi nặng IgG2 và IgG4 (SEQ ID NO: 154 và 155) được thể hiện trên Fig. 3KK.

Các trình tự polypeptit được dự đoán từ mỗi trong số các trình tự ADN bổ trợ được xác định. Các trình tự polypeptit được dự đoán đối với các vùng thay đổi chuỗi nhẹ lamda của 31H4, 21B12, và 16F12 được dự đoán và lần lượt bộc lộ là SEQ ID NO: 12, 23, và 35, vùng ổn định chuỗi nhẹ lamda (SEQ ID NO: 156), các vùng thay đổi chuỗi nặng của 31H4, 21B12, và 16F12 được dự đoán và lần lượt được bộc lộ là (SEQ. ID NO. 67, 49, và 79). Các vùng không đổi chuỗi nặng IgG2 và IgG4 (SEQ ID NO: 154 và 155).

Sự phân chia FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 được thể hiện trên Fig. 2A đến 3D.

Dữ liệu trên cơ sở dữ liệu trình tự, gen dòng mầm mà mỗi vùng thay đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ thu được từ đó được xác định. Độ đồng nhất của gen dòng mầm được biểu hiện tiếp theo dòng khối lai tương ứng trên các Fig. 2A đến 3D và mỗi gen được thể hiện bởi trình tự SEQ ID NO. duy nhất. Các Fig. 2A đến 3D cũng mô tả các trình tự axit amin được xác định với các kháng thể bổ sung mà được mô tả.

VÍ DỤ 8

Xác định đặc điểm liên kết của kháng thể với PCSK9

Có nhiều kháng thể được nhận biết mà liên kết với PCSK9, một vài hướng tiếp cận được dùng để định lượng và xác định bản chất của liên kết. Trong một khía cạnh của thử nghiệm này, phân tích ái lực Biacore được thực hiện. Theo một khía cạnh khác của nghiên cứu, phân tích ái lực KinExA® được thực hiện. Các mẫu và dung dịch đệm được sử dụng trong các nghiên cứu này được thể hiện trong Bảng 6 dưới đây.

BẢNG 6

Mẫu	[Mẫu] mg/ml	Dung dịch đệm	[Mẫu] µm
hPCSK9	1,26	PBS	16,6
mPCSK9-8xHIS	1,44	PBS	18,9
cPCSK9-V5-6xHIS	0,22	PBS	2,9
16F12, kháng PCSK9 huIgG4	4,6	20mM NaOAC, độ pH=5,2, 50mM NaCl	31,9
21B12, kháng PCSK9 huIgG4	3,84	10mM NAOAC, độ pH=5,2, 9% Sucroza	27,0
31H4, kháng PCSK9 huIgG4	3,3	10mM NAOAC, độ pH=5,2, 9% Sucroza	22,9

Đo ái lực bằng BIAcore®

Phân tích ái lực bằng BIAcore® (thiết bị cộng hưởng plasmon bề mặt, Biacore, Inc., Piscataway, NJ) của kháng thể 21B12 liên kết với PCSK9 đã được mô tả trong Ví dụ này được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Tóm lại, các thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt được thực hiện bằng cách sử dụng bộ cảm biến sinh quang học Biacore 2000 (Biacore, GE Healthcare, Piscataway, NJ). Mỗi kháng thể kháng PCSK9 riêng biệt được cố định với chip

cảm biến sinh học CM5 cấp nghiên cứu bằng cách tiếp hợp amin ở các hàm lượng tạo ra đáp ứng liên kết chất phân tích tối đa (Rmax) của không nhiều hơn 200 đơn vị cộng hưởng (RU). Nồng độ của protein PCSK9 được biến đổi gấp khoảng 2 lần (chất phân tích) và được tiêm qua bề mặt kháng thể được cố định (với lưu tốc = 100 µl/phút trong 1,5 phút). Dung dịch đệm HBS-P mới (độ pH=7,4, 0,01 M Hepes, 0,15 M NaCl, 0,005% chất hoạt động bề mặt P-20, Biacore) có bổ sung 0,01% BSA được sử dụng làm dung dịch đệm liên kết. Ái lực liên kết của mỗi kháng thể kháng PCSK9 được đo trong các thử nghiệm riêng biệt kháng lại các protein PCSK9 của người, chuột nhắt, và khỉ đuôi dài ở độ pH 7,4 (nồng độ được sử dụng là 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, và 0nM).

Ngoài ra, ái lực liên kết của kháng thể đối với PCSK9 của người còn đo được ở độ pH=6,0 với dung dịch đệm HBS-P độ pH=6,0 (độ pH=6,0, 0,01 M Hepes, 0,15 M NaCl, 0,005% chất hoạt động bề mặt P-20, Biacore) có bổ sung 0,01% BSA. Tín hiệu liên kết thu được tỷ lệ với PCSK9 tự do trong dung dịch. Hằng số cân bằng phân ly (K_D) thu được từ phân tích hồi quy không tuyến tính của các đường cong cạnh tranh bằng cách sử dụng mô hình liên kết đồng nhất một vị trí đường cong kép (KinExA® software, Sapidyne Instruments Inc., Boise, ID) (n=1 đối với việc chạy độ pH=6,0). Điều đáng ngạc nhiên là, các kháng thể xuất hiện để biểu hiện ái lực liên kết chặt chẽ hơn ở độ pH thấp hơn (trong đó Kd là 12,5, 7,3, và 29 pM đối với 31H4, 21B12, và 16F12, một cách tương ứng).

Các thông số động học liên kết của kháng thể bao gồm k_a (hằng số tốc độ kết hợp), k_d (hằng số tốc độ phân ly), và K_D (hằng số cân bằng phân ly) được xác định bằng cách sử dụng phần mềm máy tính BIA đánh giá 3.1 (BIAcore, Inc. Piscataway, NJ). Hằng số cân bằng phân ly thấp hơn chỉ ra ái lực cao hơn của kháng thể với PCSK9. Các giá trị K_D được xác định bằng phân tích ái lực BIAcore® được thể hiện trong Bảng 7,1, được thể hiện dưới đây.

BẢNG 7.1

Kháng thể	hPCSK9	CynoPCSK9	mPCSK9
31H4	210pM	190pM	6 nM

21B12	190pM	360pM	460nM
16F12	470pM	870pM	6,4 nM

Bảng 7.2 thể hiện tốc độ k_{on} và k_{off}.

BẢNG 7.2

-	K_{on} (M-1 s-1)	K_{off} (s-1)	K_D
31H4.1, độ pH=7,4	2,45 e+5	5,348 e-5	210pM
31H4.1, độ pH = 6	5,536 e+6	6,936 e-5	12,5 pM
21B12.1, độ pH=7,4	3,4918 e+4	6,634 e-6	190pM
21B12.1, độ pH = 6	2,291 e+6	1,676 e-5	7,3 pM
16F12.1, độ pH=7,4	1,064 e+5	4,983 e-5	470pM
16F12.1, độ pH = 6	2,392 e+6	7,007 e-5	29 pM

Đo ái lực bằng KinExA®

Phân tích ái lực bằng KinExA® (Sapidyne Instruments, Inc., Boise, ID) của 16F12 và 31H4 được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tóm tắt, Reacti-Gel™ (6x) (Pierce) được phủ trước bằng một trong số người, protein PCSK9 của người, khỉ đuôi dài được đánh dấu V5 hoặc chuột nhắt được đánh dấu His và được phong bế bằng BSA. 10 hoặc 100pM kháng thể 31H4 và một trong số các protein PCSK9 sau đó được ủ bằng các nồng độ khác nhau (0,1 pM – 25 nM) của các protein PCSK9 ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ trước khi được cho qua các hạt được phủ PCSK9. Lượng 31H4 được liên kết với hạt được định lượng bằng kháng thể (H+L) của dê kháng IgG của người được đánh dấu huỳnh quang (Cy5)

(Jackson Immuno Research). Tín hiệu liên kết là tương ứng với nồng độ 31H4 tự do ở sự cân bằng liên kết. Hằng số cân bằng phân ly (K_D) thu được từ hồi quy không tuyến tính của hai tập hợp đường cong cạnh tranh bằng cách sử dụng mô hình liên kết đồng nhất một vị trí. Phần mềm KinExA® Pro được sử dụng trong phân tích này. Các đường cong liên kết được tạo ra trong phân tích này được thể hiện trên các Fig. 4A-4F.

Cả hai kháng thể 16F12 và 31H4 đều thể hiện ái lực tương tự với PCSK9 của người và khỉ đuôi dài, nhưng ái lực thấp hơn khoảng từ 10 đến 250 lần so với PCSK9 của chuột nhắt. Trong số hai kháng thể được thử bằng cách sử dụng hệ thống KinExA®, kháng thể 31H4 thể hiện ái lực cao hơn so với cả PCSK9 người và khỉ đuôi dài với K_D là 3 và 2 pM, một cách tương ứng. 16F12 thể hiện ái lực yếu không đáng kể ở K_D là 15pM với PCSK9 của người và K_D là 16 pM với PCSK9 của khỉ đuôi dài.

Kết quả của phân tích ái lực bằng KinExA® được tổng kết trong Bảng 8.1, được thể hiện dưới đây.

BẢNG 8.1

	hPCSK9		cPCSK		mPCSK	
Mẫu	**K_D (pM)**	95% CI	**K_D (pM)**	95% CI	**K_D (pM)**	95% CI
31H4.1	**3**	1~5	**2**	1~3	**500**	400~620

Ngoài ra, SDS PAGE được chạy để kiểm tra chất lượng và số lượng của các mẫu và được thể hiện trên Fig. 5A. CPCSK9 thể hiện nhỏ hơn khoảng 50% trên gel và cả từ nồng độ liên kết hoạt tính đã được tính từ thử nghiệm KinExA®. Do đó, K_D của mAb với cPCSK9 được điều chỉnh là 50% của cPCSK9 có hoạt tính hiện tại.

Thử nghiệm liên kết cân bằng dung dịch BIAcore được dùng để đo các giá trị Kd với ABP 21B12. 21B12.1 thể hiện tín hiệu ngắn bằng cách sử dụng thử nghiệm KinExA, do đó, thử nghiệm cân bằng dung dịch biacore được áp dụng. Do không có liên kết đáng kể được quan sát thấy trên liên kết của các kháng thể với bề mặt của PCSK9 được cố định, kháng thể 21B12 được cố định trên tế bào dòng 4

của chip CM5 bằng cách sử dụng sự ghép cặp amin với tỷ trọng khoảng 7000 RU. Tế bào dòng 3 được sử dụng làm đối chứng cơ sở. 0,3, 1, và 3 nM của PCSK9 của người hoặc PCSK9 của khỉ đuôi dài được trộn với các dung dịch pha loãng theo bậc của các mẫu kháng thể 21B12.1 (nằm trong khoảng từ 0,001 đến 25nM) trong PBS cùng với 0,1mg/ml BSA, 0,005% P20. Liên kết của PCSK9 tự do trong dung dịch hỗn hợp được đo bằng cách tiêm qua bề mặt kháng thể 21B12.1. 100% tín hiệu liên kết PCSK9 trên bề mặt 21B12.1 được xác định khi không có mặt mAb trong dung dịch. Đáp ứng liên kết PCSK9 giảm với nồng độ tăng dần của mAb chỉ ra rằng PCSK9 liên kết với mAb trong dung dịch, mà PCSK9 được phong bế từ liên kết với bề mặt thể peptit được cố định. Vẽ đồ thị tín hiệu liên kết PCSK9 với các nồng độ mAb, K_D được tính từ ba tập hợp đường cong (nồng độ PCSK9 được cố định 0,3, 1 và 3nM) bằng cách sử dụng mô hình liên kết đồng nhất một vị trí trong phần mềm KinExA Pro™. Mặc dù cPCSK9 có nồng độ protein thấp hơn được quan sát từ thử nghiệm KinExA và SDS-gel, nhưng nồng độ của nó không được điều chỉnh ở đây do nồng độ của cPCSK9 không được sử dụng để tính KD. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 8.2 dưới đây và trên các Fig. 5B-5D. Fig. 5B thể hiện các kết quả từ thử nghiệm cân bằng dung dịch ở ba nồng độ hPCSK9 khác nhau với hPCSK9. Fig. 5C thể hiện tập hợp kết quả tương tự với mPCSK9. Fig. 5D thể hiện các kết quả từ thử nghiệm thu giữ biacore.

BẢNG 8.2

	hPCSK9		cPCSK		mPCSK	
Mẫu	K_D (pM)	95% Cl	K_D (pM)	95% Cl	K_D (pM)	95% Cl
21B12.1	15	9~23	11	7~16	17000	-

VÍ DỤ 9

Hiệu quả của 31H4 và 21B12 để phong bế liên kết của PCSK9 D374Y/LDLR

Ví dụ cung cấp các trị số IC50 trong hai kháng thể khi phong bế khả năng của PCSK9 D374Y để liên kết với LDLR. Các đĩa 384 lỗ (Costar) được phủ bằng

2 microgam/ml kháng thể thụ thể kháng LDL của dê (R&D System) được pha loãng trong dung dịch đệm A (100mM natri cacođylat, độ pH=7,4). Các đĩa được rửa kỹ bằng dung dịch đệm A và sau đó được phong bế trong 2 giờ bằng dung dịch đệm B (1% sữa trong dung dịch đệm A). Sau khi rửa, các đĩa được ủ trong 1,5 giờ bằng 0,4 microgram/ml thụ thể LDL (R&D System) được pha loãng trong dung dịch đệm C (dung dịch đệm B có bổ sung 10mm $CaCl_2$). Đồng thời với việc ủ này, 20 ng/ml PCSK9 D374Y có gắn biotin được ủ với các nồng độ khác nhau của kháng thể IgG431H4 IgG2, 31H4 IgG4, 21B12 IgG2 hoặc 21B12, mà được pha loãng trong dung dịch đệm A, hoặc riêng dung dịch đệm A (đối chứng). Các đĩa chứa thụ thể LDL được rửa và hỗn hợp PCSK9 D374Y/kháng thể có gắn biotin được chuyển vào các đĩa này và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Liên kết của D374Y có gắn biotin với thụ thể LDL được phát hiện bằng cách ủ với streptavidin-HRP (Biosource) ở 500 ng/ml trong dung dịch đệm C tiếp theo là cơ chất TMB (KPL). Tín hiệu được làm dừng bằng dung dịch HCl 1N và đọc độ hấp thụ ở 450nm.

Các kết quả của nghiên cứu về sự liên kết này được thể hiện trên các Fig. 6A-6D. Tóm lại, các trị số IC_{50} được xác định cho mỗi kháng thể và được tìm thấy là 199 pM đối với 31H4 IgG2 (FIG. 6A), 156 pM đối với 31H4 IgG4 (FIG. 6B), 170pM đối với 21B12 IgG2 (FIG. 6C), và 169 pM đối với 21B12 IgG4 (FIG. 6D).

Các kháng thể cũng được phong bế liên kết của PCSK9 loại dại với LDLR trong thử nghiệm này.

VÍ DỤ 10

Thử nghiệm hấp thụ tế bào LDL

Ví dụ này chứng minh khả năng của các protein liên kết kháng nguyên khác nhau để làm giảm sự hấp thụ LDL bởi các tế bào. Các tế bào HepG2 của người được gieo giống trong đĩa 96 lỗ màu đen, đáy trong (Costar) ở nồng độ $5x10^5$ tế bào cho mỗi lỗ trong môi trường DMEM (Mediatech, Inc) có bổ sung 10% FBS và ủ ở 37°C (5% CO_2) qua đêm. Để tạo ra phức PCSK9 và kháng thể, 2 µg/ml PCSK9 của người D374Y được ủ với các nồng độ khác nhau của kháng thể đã được pha loãng trong dung dịch đệm hấp thụ (DMEM với 1% FBS) hoặc riêng

dung dịch đệm hấp thụ (đối chứng) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa các tế bào với PBS, hỗn hợp PCSK9 D374Y/kháng thể được chuyển vào các tế bào, tiếp theo LDL-BODIPY (do Invitrogen cung cấp) đã được pha loãng trong dung dịch đệm hấp thụ ở nồng độ cuối cùng bằng 6 μg/ml. Sau khi ủ trong 3 giờ ở 37°C (5% CO_2), các tế bào được rửa kỹ bằng PBS và tín hiệu huỳnh quang của tế bào được phát hiện bằng Safire™ (TECAN) ở bước sóng từ 480 đến 520nm (bước sóng kích thích) và bước sóng từ 520 đến 600nm (bước sóng phát xạ).

Kết quả của thử nghiệm hấp thụ tế bào được thể hiện trên các Fig. 7A-7D. Tóm lại, các trị số IC_{50} được xác định đối với mỗi kháng thể và được tìm thấy là 16,7 nM đối với 31H4 IgG2 (FIG. 7A), 13,3 nM đối với 31H4 IgG4 (FIG. 7B), 13,3 nM đối với 21B12 IgG2 (FIG. 7C), và 18 nM đối với 21B12 IgG4 (FIG. 7D). Các kết quả này chứng minh rằng các protein liên kết kháng nguyên được áp dụng có thể làm giảm tác dụng của PCSK9 (D374Y) để phong bế sự hấp thụ LDL bởi các tế bào. Các kháng thể cũng phong bế tác dụng của PCSK9 loại dại trong thử nghiệm này.

VÍ DỤ 11

Tác dụng làm giảm cholesterol trong huyết thanh của kháng thể 31H4 trong 6 ngày nghiên cứu

Nhằm đánh giá sự giảm cholesterol tổng trong huyết thanh (TC) ở chuột nhắt loại dại (WT) thông qua liệu pháp kháng thể kháng lại protein PCSK9, quy trình sau đây được thực hiện.

Chuột nhắt WT đực (chủng C57BL/6, tuổi từ 9 đến 10 tuần, từ 17g đến 27g) thu được từ phòng thí nghiệm Jackson (Jackson Laboratory) (Bar Harbor, ME) được cho ăn thức ăn bình thường (Harland-Teklad, Diet 2918) trong suốt khoảng thời gian thử nghiệm. Chuột nhắt được cho dùng kháng thể 31H4 kháng PCSK9 (2mg/ml trong PBS) hoặc IgG đối chứng (2mg/ml trong PBS) ở hàm lượng bằng 10mg/kg thông qua tĩnh mạch đuôi của chuột nhắt tại T=0. Chuột nhắt chưa qua thử nghiệm cũng được tách làm nhóm đối chứng chưa qua thử nghiệm. Các nhóm dùng theo liều và thời gian chết trợ tử được thể hiện trong Bảng 9.

BẢNG 9

Nhóm	Điều trị	Thời điểm sau khi dùng theo liều	Số
1	IgG	8 giờ	7
2	31H4	8 giờ	7
3	IgG	24 giờ	7
4	31H4	24 giờ	7
5	IgG	72 giờ	7
6	31H4	72 giờ	7
7	IgG	144 giờ	7
8	31H4	144 giờ	7
9	Loại dại	n/a	7

Chuột được cho chết trợ tử bằng cách gây ngạt bằng CO_2 tại thời điểm được xác định trước thể hiện trong Bảng 9. Máu được lấy thông qua tĩnh mạch chủ vào các ống eppendorf và cho phép keo tụ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Các mẫu được ly tâm trong thiết bị ly tâm ổn định ở 12.000xg trong 10 phút để tách huyết thanh. Cholesterol tổng trong huyết thanh và HDL-C được đo bằng cách sử dụng máy phân tích lâm sàng Hitachi 912 và Roche/Hitachi TC và bộ kit HDL-C.

Kết quả của thử nghiệm được thể hiện trên các Fig. 8A-8D. Tóm lại, chuột nhắt mà được cho sử dụng kháng thể 31H4 làm giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh trong khoảng thời gian thử nghiệm (FIG. 8A và FIG. 8B). Ngoài ra, cần phải lưu ý rằng chuột nhắt cũng thể hiện hàm lượng HDL giảm (FIG. 8C và FIG. 8D). Đối với Fig. 8A và FIG. 8C, sự thay đổi theo tỷ lệ phần trăm liên quan đến IgG đối chứng tại cùng thời điểm (*P<0,01, # P<0,05). Đối với Fig. 8B và FIG 8D, sự thay đổi theo tỷ lệ phần trăm liên quan đến cholesterol tổng trong huyết thanh và hàm lượng HDL đo được ở các con vật chưa qua thử nghiệm tại t=0 giờ (*P<0,01, # P<0,05).

Đối với hàm lượng HDL được làm giảm, cần phải lưu ý rằng người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được rằng việc làm giảm HDL ở chuột nhắt không chỉ định làm giảm HDL sẽ xảy ra ở người và chỉ phản ánh thêm

rằng hàm lượng cholesterol trong huyết thanh ở sinh vật giảm. Cần phải lưu ý rằng chuột nhắt vận chuyển phần lớn cholesterol trong huyết thanh trong các phần tử lipoprotein tỷ trọng cao (HDL) mà khác với người mà mang hầu hết cholesterol trong huyết thanh trên các phần tử LDL. Ở chuột nhắt, số đo cholesterol tổng trong huyết thanh hầu như giống với hàm lượng của HDL-C trong huyết thanh. HDL của chuột nhắt chứa apolipoprotein E (apoE) là phối tử cho thụ thể LDL (LDLR) và cho phép được làm sạch bởi LDLR. Do đó, việc kiểm tra HDL là chỉ báo thích hợp cho ví dụ này, ở chuột nhắt (nên hiểu rằng việc làm giảm HDL không được mong đợi đối với người). Ví dụ, HDL của người, ngược lại, không chứa apoE và không phải là phối tử cho LDLR. Do các kháng thể PCSK9 làm tăng sự biểu hiện LDLR trong chuột nhắt, nên gan có thể làm sạch HDL nhiều hơn và do đó làm giảm hàm lượng HDL-C trong huyết thanh.

VÍ DỤ 12

Tác dụng của kháng thể 31H4 đối với hàm lượng LDLR trong 6 ngày nghiên cứu

Ví dụ này thể hiện rằng protein liên kết kháng nguyên biến đổi hàm lượng của LDLR ở đối tượng, như được dự đoán, sau một khoảng thời gian. Phân tích Western blot được thực hiện để làm sáng tỏ tác dụng của kháng thể 31H4 đối với hàm lượng LDLR. Từ 50 đến 100mg mô gan thu được từ chuột nhắt được cho chết trợ tự được bộc lộ trong Ví dụ 13 được đồng nhất hóa trong 0,3ml dung dịch đệm RIPA (Santa Cruz Biotechnology Inc.) chứa chất ức chế proteaza hoàn chỉnh (Roche). Dịch đồng nhất được ủ trên nước đá trong 30 phút và được ly tâm để tạo viên kết các mảnh tế bào. Nồng độ protein trong dịch nổi bề mặt được đo bằng cách sử dụng các chất thử của thử nghiệm protein BioRad (BioRad laboratories). 100µg protein được biến tính ở 70°C trong 10 phút và được tách trên 4-12% gel građien Bis-Tris SDS (do Invitrogen cung cấp). Các protein được chuyển sang màng 0,45 µm PVDF (do Invitrogen cung cấp) và được phong bế trong dung dịch đệm rửa (50mM Tris pH=7,5, 150mM NaCL, 2mM $CaCl_2$ và 0,05% Tween 20) chứa 5% sữa không béo trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Vết thấm tách sau đó sẽ được phát hiện bằng kháng thể của dê kháng LDLR của chuột nhắt (R&D

system) ở tỷ lệ 1:2000 hoặc kháng ß actin (do Sigma cung cấp) ở tỷ lệ 1:2000 trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Vết thấm tách được rửa trong một thời gian ngắn và ủ bằng kháng thể liên hợp với HRP của bò kháng IgG của dê (Santa Cruz Biotechnology Inc.) ở tỷ lệ 1:2000 hoặc kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng IgG của chuột nhắt (Upstate) ở tỷ lệ 1:2000. Sau 1 giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng, vết thấm tách được rửa kỹ và các băng phản ứng miễn dịch được phát hiện bằng cách sử dụng bộ kit cùng với ECL (Amersham biosciences). Phân tích Western blot cho thấy sự tăng hàm lượng protein LDLR khi có mặt kháng thể 31H4, như được thể hiện trên Fig. 9.

VÍ DỤ 13

Tác dụng làm giảm cholesterol trong huyết thanh của kháng thể 31H4 trong 13 ngày nghiên cứu

Nhằm đánh giá việc làm giảm cholesterol tổng trong huyết thanh (TC) ở chuột nhắt loại dại (WT) thông qua liệu pháp kháng thể kháng lại protein PCSK9 trong 13 ngày nghiên cứu, quy trình sau đây được thực hiện.

Chuột nhắt WT (chủng C57BL/6, tuổi từ 9 đến 10 tuần, từ 17 đến 27g) thu được từ phòng thí nghiệm Jackson (Jackson Laboratory) (Bar Harbor, ME) được cho ăn thức ăn bình thường (Harland-Teklad, Diet 2918) trong suốt khoảng thời gian thử nghiệm. Chuột nhắt được cho dùng kháng thể 31H4 kháng PCSK9 (2mg/ml trong PBS) hoặc IgG đối chứng (2mg/ml trong PBS) ở hàm lượng 10mg/kg thông qua tĩnh mạch đuôi của chuột nhắt ở T=0. Chuột nhắt chưa qua thử nghiệm còn được dùng làm nhóm đối chứng chưa qua thử nghiệm.

Các nhóm dùng theo liều và thời gian chết trợ tử được thể hiện trong Bảng 10. Con vật được cho chết trợ tử và gan được tách ra và điều chế được như bộc lộ trong Ví dụ 13.

BẢNG 10

Nhóm	Điều trị	Thời điểm sau khi dùng theo liều	Số	Liều
1	IgG	72 giờ	6	10mg/kg

Nhóm	Điều trị	Thời điểm sau khi dùng theo liều	Số	Liều
2	31H4	72 giờ	6	10mg/kg
3	31H4	72 giờ	6	1mg/kg
4	IgG	144 giờ	6	10mg/kg
5	31H4	144 giờ	6	10mg/kg
6	31H4	144 giờ	6	1mg/kg
7	IgG	192 giờ	6	10mg/kg
8	31H4	192 giờ	6	10mg/kg
9	31H4	192 giờ	6	1mg/kg
10	IgG	240 giờ	6	10mg/kg
11	31H4	240giờ	6	10mg/kg
12	31H4	240giờ	6	1mg/kg
13	IgG	312 giờ	6	10mg/kg
14	31H4	312 giờ	6	10mg/kg
15	31H4	312 giờ	6	1mg/kg
16	Chưa qua thử nghiệm	n/a	6	n/a

Khi 6 ngày thử nghiệm được kéo dài đến 13 ngày nghiên cứu, thì tác dụng làm giảm cholesterol trong huyết thanh được quan sát ở 6 ngày nghiên cứu cũng được quan sát ở 13 ngày nghiên cứu. Cụ thể hơn, động vật được dùng theo liều ở 10mg/kg được chứng minh làm giảm 31% cholesterol trong huyết thanh vào ngày thứ 3, mà quay trở lại dần dần đến hàm lượng trước liều vào khoảng ngày 13. Fig. 10A thể hiện kết quả của thử nghiệm này. Fig. 10C thể hiện kết quả lặp lại quy trình nêu trên với liều 10mg/kg của 31H4, và với kháng thể khác, 16F12, cũng ở 10mg/kg. Các nhóm dùng theo liều và thời gian được cho chết trợ tử được thể hiện trong Bảng 11.

BẢNG 11

Nhóm	Điều trị	Thời điểm sau khi dùng theo liều	Số	Liều
1	IgG	24 giờ	6	10mg/kg
2	16F12	24 giờ	6	10mg/kg
3	31H4	24 giờ	6	10mg/kg
4	IgG	72 giờ	6	10mg/kg
5	16F12	72 giờ	6	10mg/kg
6	31H4	72 giờ	6	10mg/kg
7	IgG	144 giờ	6	10mg/kg
8	16F12	144 giờ	6	10mg/kg
9	31H4	144 giờ	6	10mg/kg
10	IgG	192 giờ	6	10mg/kg
11	16F12	192 giờ	6	10mg/kg
12	31H4	192 giờ	6	10mg/kg
13	IgG2	240 giờ	6	10mg/kg
14	16F12	240 giờ	6	10mg/kg
15	31H4	240 giờ	6	10mg/kg
16	IgG2	312 giờ	6	10mg/kg
17	16F12	312 giờ	6	10mg/kg
18	31H4	312 giờ	6	10mg/kg
19	Chưa qua thử nghiệm	n/a	6	10mg/kg

Như được thể hiện trên Fig. 10C, cả 16F12 và 31H4 đều dẫn đến sự giảm đáng kể và có ý nghĩa của cholesterol tổng trong huyết thanh đáng kể chỉ sau khi dùng một liều và tạo ra các lợi ích trong hơn tuần (10 ngày hoặc nhiều hơn). Kết quả của 13 ngày nghiên cứu lặp lại là phù hợp với kết quả của 13 ngày nghiên cứu đầu tiên, với việc làm giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh 26% vào ngày thứ 3 được quan sát. Đối với Fig. 10A và FIG. 10B, sự thay đổi theo tỷ lệ phần trăm liên quan đến IgG đối chứng tại cùng thời điểm (*P<0,01). Đối với Fig. 10C, sự thay đổi tỷ lệ phần trăm liên quan đến IgG đối chứng tại cùng thời điểm (*P<0,05).

VÍ DỤ 14

Tác dụng của kháng thể 31H4 đối với hàm lượng HDL trong 13 ngày nghiên cứu

Hàm lượng của HDL đối với các con vật trong Ví dụ 15 cũng được đánh giá. Hàm lượng HDL được làm giảm ở chuột nhắt. Cụ thể hơn, các con vật được cho dùng theo liều ở 10mg/kg được chứng minh là làm giảm 33% hàm lượng HDL vào ngày thứ 3, mà quay trở lại dần đến đến hàm lượng trước liều vào khoảng ngày 13. Fig. 10B thể hiện kết quả của thử nghiệm. Có sự giảm hàm lượng HDL bằng 34% vào ngày thứ 3. Fig. 10B thể hiện kết quả của 13 ngày thử nghiệm được lặp lại.

Như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, trong khi các kháng thể sẽ làm giảm HDL của chuột nhắt, điều này không được mong đợi để xảy ra ở người do các chênh lệch về HDL ở người và các sinh vật khác (như chuột nhắt). Do đó, việc làm giảm HDL của chuột nhắt không phải là dấu hiệu chỉ báo về sự giảm HDL của người.

VÍ DỤ 15

Dùng lặp lại các kháng thể tạo ra các lợi ích liên tục cho peptit liên kết kháng nguyên

Nhằm xác nhận các kết quả thu được trong các ví dụ trên đây có thể kéo dài với các lợi ích khác với các liều bổ sung, các thử nghiệm trong Ví dụ 15 và 16 được lặp lại với lịch trình dùng theo liều được thể hiện trên Fig. 11A. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 11B. Như có thể được quan sát trong đồ thị trên Fig. 11B, trong khi cả hai tập hợp chuột nhắt đều thể hiện sự giảm đáng kể cholesterol tổng trong huyết thanh do tất cả chuột nhắt đều tiếp nhận lần tiêm ban đầu của protein liên kết kháng nguyên 31H4, chuột nhắt tiếp nhận các lần tiêm bổ sung 31H4 ABP thể hiện sự giảm liên tục cholesterol tổng trong huyết thanh, trong khi các con chuột nhắt đó chỉ tiếp nhận dịch tiêm đối chứng cuối cùng thể hiện sự tăng cholesterol tổng trong huyết thanh của chúng. Đối với Fig. 11, sự thay đổi theo tỷ

lệ phần trăm liên quan đến con vật chưa qua thử nghiệm ở t=0 giờ (*P<0,01, **P<0,001).

Các kết quả từ Ví dụ này chứng minh rằng, không giống như các phương pháp điều trị cholesterol khác, trong đó các ứng dụng lặp lại dẫn đến sự giảm tính hiệu quả do sự điều chỉnh sinh học ở đối tượng, hướng tiếp cận này dường như không xảy ra vấn đề trong khoảng thời gian đánh giá. Hơn thế nữa, ví dụ này gợi ý rằng sự quay trở lại cholesterol tổng trong huyết thanh hoặc hàm lượng cholesterol HDL với đường chuẩn, được quan sát trong các ví dụ trước không chống lại việc điều trị được phát triển bởi đối tượng, nhưng đúng hơn là thiếu hụt sự có sẵn của kháng thể ở đối tượng.

VÍ DỤ 16

Sử dụng các kháng thể kháng PCSK9 để điều trị các rối loạn liên quan đến cholesterol

Bệnh nhân mắc rối loạn có liên quan đến cholesterol (trong đó sự giảm cholesterol (như cholesterol trong huyết thanh) có thể có lợi) được cho dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của kháng thể kháng PCSK9, như 31H4 (hoặc, ví dụ, 21B12). Tại thời gian trong khi điều trị, bệnh nhân được theo dõi để xác định xem liệu các triệu chứng rối loạn có được giảm xuống không. Sau khi điều trị, đã phát hiện ra rằng các bệnh nhân trải qua việc điều trị bệnh bằng kháng thể kháng PCSK9 có hàm lượng cholesterol trong huyết thanh giảm, so với các bệnh nhân thì không được điều trị.

VÍ DỤ 17

Sử dụng các kháng thể kháng PCSK9 để điều trị chứng tăng cholesterol huyết

Bệnh nhân mắc các triệu chứng tăng cholesterol huyết được cho dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của kháng thể kháng PCSK9, như 31H4 (hoặc, ví dụ, 21B12). Tại thời gian trong khi điều trị, bệnh nhân được theo dõi để xác định xem liệu hàm lượng cholesterol trong huyết thanh có được làm giảm bớt không. Sau

điều trị, đã phát hiện ra rằng bệnh nhân tiếp nhận việc điều trị bệnh bằng các kháng thể PCSK9 có hàm lượng cholesterol trong huyết thanh giảm so với các bệnh nhân mắc bệnh viêm khớp không tiếp nhận việc điều trị.

VÍ DỤ 18

Sử dụng các kháng thể khángPCSK9 để ngăn ngừa bệnh tim mạch vành và/hoặc các biến cố tim mạch tái phát

Bệnh nhân có nguy cơ tiến triển bệnh tim mạch vành được nhận biết. Bệnh nhân này được cho dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của kháng thể kháng PCSK9, như 31H4 (hoặc, ví dụ, 21B12), riêng lẻ, đồng thời hoặc lần lượt với statin, ví dụ, simvastatin. Tại thời gian trong khi điều trị, bệnh nhân được theo dõi để xác định xem liệu hàm lượng cholesterol tổng trong huyết thanh của bệnh nhân có thay đổi không. Thông qua việc điều trị ngăn ngừa bệnh, đã phát hiện ra rằng bệnh nhân tiếp nhận việc điều trị bệnh bằng các kháng thể kháng PCSK9 có làm giảm cholesterol trong huyết thanh, do đó làm giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch vành hoặc các biến cố tim mạch tái phát so với các bệnh nhân không tiếp nhận việc điều trị.

VÍ DỤ 19

Sử dụng protein liên kết kháng nguyên liên kết với PCSK9 để ngăn ngừa chứng tăng cholesterol huyết

Bệnh nhân có nguy cơ tiến triển chứng tăng cholesterol huyết được nhận biết thông qua phân tích tiền sử gia đình và/hoặc lối sống, và/hoặc hàm lượng cholesterol hiện tại. Đối tượng được cho dùng thường xuyên (ví dụ, một lần hằng tuần) lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của kháng thể kháng PCSK9, 31H4 (hoặc, ví dụ, 21B12). Tại thời gian trong khi điều trị, bệnh nhân được theo dõi để xác định xem liệu mức cholesterol trong huyết thanh có được làm giảm không. Sau điều trị, đã phát hiện ra rằng đối tượng trải qua việc điều trị ngăn ngừa bệnh bằng kháng thể kháng PCSK9 có hàm lượng cholesterol trong huyết thanh giảm, so với đối tượng không được điều trị.

VÍ DỤ 20

Nghiên cứu liều đơn tăng dần, có kiểm soát giả dược, mù kép, ngẫu nhiên, pha 1 để đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp, dược động học và dược lực học của kháng thể kháng PCSK9 của người ở đối tượng khỏe mạnh

Nghiên cứu này là một nghiên cứu liều đơn tăng dần, có kiểm soát giả dược, mù kép, ngẫu nhiên, pha 1 để đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp PK, dược lực học (PD) (LDL-C), và tính sinh miễn dịch của kháng thể kháng PCSK9 của người (kháng thể đơn dòng 21B12) ở đối tượng khỏe mạnh. Đối tượng được phân chia một cách ngẫu nhiên theo tỷ lệ 3:1 (21B12:giả dược; 8 đối tượng mỗi nhóm liều với tổng cộng 56 đối tượng trong 7 nhóm họ gần) để tiếp nhận 21B12 ở các liều lượng 7, 21, 70, 210, hoặc 420mg SC, hoặc giả dược tương ứng; hoặc 21B12 ở các liều lượng 21 hoặc 420mg IV, hoặc giả dược tương ứng.

56 đối tượng được phân chia một cách ngẫu nhiên và tiếp nhận sản phẩm điều tra (42 21B12, 14 giả dược); 40 đối tượng (30 21B12, 10 giả dược) tiếp nhận sản phẩm điều tra bằng đường dùng SC, và 16 đối tượng (12 21B12, 4 giả dược) tiếp nhận sản phẩm điều tra bằng đường dùng IV. 53 trong 56 đối tượng (95%) mà tiếp nhận sản phẩm điều tra kết thúc nghiên cứu. Ba đối tượng tiếp nhận 21B12 đã rút lại sự phê chuẩn và không hoàn thành nghiên cứu.

Quần thể nghiên cứu cấu thành chủ yếu bởi nam giới (54 [96%]) và có độ tuổi trung bình là 31,2 (nằm trong khoảng từ 20 đến 45) tuổi. Tám mươi sáu phần trăm đối tượng là da trắng, tiếp theo 9% Hispanic/Latino, 4% da đen và 1% là đối tượng khác. Trị số LDL-C đường chuẩn trung bình là tương tự giữa các nhóm điều trị và nằm trong khoảng từ 113 đến 143mg/dL.

Theo thử nghiệm này, 21B12 làm giảm LDL-C trung bình khoảng từ 55% đến 60% ở các liều đơn ≥ 70mg SC với khoảng thời gian tác dụng là phụ thuộc vào liều. Điểm LDL-C được quan sát thấy trong 2 tuần dùng theo liều. Sự ức chế hoàn toàn PCSK9 được quan sát thấy ở các liều đơn ≥ 70mg SC, mà tương quan tốt với các tác dụng được quan sát trên LDL-C tuần hoàn.

Các phân tích PK đã chứng minh rằng 21B12 thể hiện sự loại trừ không tuyến tính (phụ thuộc nồng độ). t_{max} trung bình nằm trong khoảng từ 4 đến 6 ngày. Như được mong đợi, nồng độ quan sát tối đa trung bình cao nhất (C_{max}) và diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian từ thời gian 0 đến vô cùng ($AUC_{0\text{-}inf}$) xảy ra ở nhóm 420mg IV và lần lượt là 139 µg/ml và 1550 ngày•µg/ml.

Các biến cố bất lợi khẩn cấp điều trị được báo cáo ở 29 trong số 42 đối tượng (69%) tiếp nhận 21B12 ở liều bất kỳ, và ở 10 trong số 14 đối tượng (71%) tiếp nhận giả dược. Không có mối liên hệ rõ ràng giữa đối tượng rơi vào các bệnh đảo ngược và liều của 21B12, hoặc giữa đối tượng rơi vào các biến cố bất lợi và đường dùng của 21B12 (SC so với IV).

Không có biến cố bất lợi được báo cáo là nghiêm trọng, và không có đối tượng được nghiên cứu liên tục do biến cố bất lợi. Không có đối tượng chết trong nghiên cứu.

Các biến cố bất lợi liên quan đến điều trị đã được báo cáo ở 18 trong số 42 đối tượng (43%) tiếp nhận 21B12 và ở 10 trong số 14 đối tượng (71%) tiếp nhận giả dược. Không có mối liên hệ rõ ràng giữa đối tượng rơi vào các biến cố bất lợi liên quan đến điều trị và liều của 21B12, hoặc giữa đối tượng rơi vào các biến cố bất lợi liên quan đến điều trị và đường dùng của 21B12 (SC so với IV).

Không có xu hướng là dấu hiệu chỉ báo về các tác dụng quan trọng về mặt lâm sàng của 21B12 trên các biến thể thí nghiệm được chọn, điện tâm đồ (ECG), hoặc các tín hiệu quan trọng.

Theo thử nghiệm này, 21B12 xuất hiện được dung nạp tốt ở các liều SC và IV đơn lên đến 420mg.

Các mẫu huyết thanh từ đối tượng được đưa vào thử nghiệm này được thử nghiệm sự có mặt (đường chuẩn) hoặc sự tiến triển (sau điều trị) của kháng thể kháng 21B12. Các mẫu từ tất cả 42 đối tượng tiếp nhận 21B12 là âm tính đối với kháng thể kháng 21B12.

VÍ DỤ 21

Các nghiên cứu đa liều tăng dần, có kiểm soát giả dược, mù kép, ngẫu nhiên, pha 1 để đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp, dược động học và dược lực học của kháng thể kháng PCSK9 của người ở đối tượng mắc chứng tăng lipit huyết đối với các liều statin ổn định

Nghiên cứu này là nhiều nghiên cứu đa liều tăng dần, có kiểm soát giả dược, mù kép, ngẫu nhiên, pha 1 bằng cách sử dụng kháng thể kháng PCSK9 của người (kháng thể đơn dòng 21B12) ở đối tượng mắc chứng tăng lipit huyết (ví dụ, tăng cholesterol huyết) hiện tại trên các liều lượng statin ổn định. Nghiên cứu có bảy nhóm họ gần. Mục đích của tất cả các nhóm họ gần bao gồm việc xác định tính chất của độ an toàn, khả năng dung nạp, và tính sinh miễn dịch của 21B12, và xác định tính chất của PK và PD (LDL-C và PCSK9). Các nhóm họ gần từ 1 đến 5 của thử nghiệm này thể hiện phần tăng liều 21B12, ở đối tượng tăng cholesterol huyết trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải. Đối tượng các nhóm họ gần từ 1 đến 5 (n = 8/nhóm họ gần) với LDL-C (từ 70 đến 200mg/dL) trên rosuvastatin ổn định hằng ngày <40mg, atorvastatin <80mg hoặc simvastatin 20–80mg trong thời gian ≥1 tháng được phân chia một cách ngẫu nhiên theo tỷ lệ 3:1 để tiếp nhận lần lượt 1 trong 5 liều của SC 21B12 (14 hoặc 35mg QW 6 lần; hoặc 140mg hoặc 280mg Q2W 3 lần; hoặc 420mg Q4W 2 lần) hoặc giả dược tương ứng. Nhóm họ gần 6 được tiến hành ở đối tượng tăng cholesterol trên các liều lượng statin (atorvastatin 80mg hoặc rosuvastatin 40mg). Đối tượng trong nhóm họ gần này (n=12) là trên rosuvastatin 40mg hoặc atorvastatin 80mg và được phân chia một cách ngẫu nhiên theo tỷ lệ 3:1 để tiếp nhận lần lượt 21B12 (140mg SC Q2W 3 lần) hoặc giả dược tương ứng. Nhóm họ gần 7 được tiến hành ở đối tượng mắc chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử (được nhận biết bằng cách sử dụng tiêu chuẩn của WHO); đối tượng trong nhóm họ gần này (n = 6) được phân chia một cách ngẫu nhiên theo tỷ lệ 2:1 để tiếp nhận 21B12 (140mg SC Q2W 3 lần) hoặc giả dược tương ứng. Để phân loại, Nhóm họ gần 1 tiếp nhận liều SC bằng 14mg 21B12 mỗi tuần một lần, 6 lần. Nhóm họ gần 2 tiếp nhận các liều SC bằng 35mg 21B12 mỗi tuần một lần, 6 lần. Nhóm họ gần 3 tiếp nhận các liều SC bằng 140mg

21B12 hai tuần một lần, 3 lần. Nhóm họ gần 4 tiếp nhận các liều SC bằng 280mg 21B12 hai tuần một lần, 3 lần. Nhóm họ gần 5 tiếp nhận các liều SC bằng 420mg 21B12 4 tuần một lần, 2 lần.

Các kết quả sơ bộ thu được từ 40 đối tượng được đưa vào và phân chia ngẫu nhiên đến 21B12 hoặc giả dược. Trong số 40 đối tượng này, 28 đối tượng đã tiếp nhận ≥ 1 liều sản phẩm điều tra (21B12 hoặc giả dược) và do đó thể hiện tập hợp phân tích an toàn sơ bộ (được làm mù đối với việc điều trị). Dữ liệu an toàn mù sơ bộ có sẵn đối với 28 đối tượng này, tất cả đều từ các nhóm họ gần từ 1 đến 4. Không có người chết, các biến cố bất lợi nghiêm trọng, hoặc rút lui sớm do liên quan đến biến cố bất lợi được báo cáo. Nói chung, ít nhất 1 biến cố bất lợi được báo cao ở 15 trong số 28 đối tượng (54%) tiếp nhận ≥ 1 liều sản phẩm điều tra. Hầu hết các biến cố bất lợi (được là mù đối với việc điều trị) đã được báo cáo đối các đối tượng đơn lẻ, trừ bị mỏi, viêm khớp, táo bón, và xâm nhiễm đường hô hấp phía trên do virut, mỗi trường hợp được báo cáo ở 2 trong 28 đối tượng (7%).

Các kết quả dược lực học sơ bộ (được làm mù đối với việc điều trị) có sẵn với nhóm họ gần 1, 2, và 3. Sự giảm phụ thuộc liều 21B12 trong LDL-C tuần hoàn được quan sát, ở đối tượng trên các liều lượng statin ổn định vừa phải. Điểm LDL-C được quan sát trong 2 tuần dùng theo liều ban đầu và sự giảm nằm trong khoảng từ 60% đến 80% ở nhóm họ gần 3 (140mg Q2W SC 3 lần). Sự ức chế gần hoàn toàn của PCSK9 được quan sát thấy trong nhóm họ gần 3, mà tương quan tốt với các hiệu quả được quan sát trên LDL-C tuần hoàn.

Trong các kết quả cuối cùng, đối tượng (N=51) ở nhóm họ gần từ 1 đến 6 được phân chia một cách ngẫu nhiên để tiếp nhận 21B12 (N=39) hoặc giả dược (N=12); 26 đối tượng (51%) là nam; tuổi trung bình (SD) là 58 (7) tuổi. Không có người chết hoặc biến cố bất lợi nghiêm trọng (AE) đã được báo cáo và không đối tượng được đứt quãng nghiên cứu có AE. Không có các kháng thể trung hòa đến 21B12 được phát hiện.

Các đối tượng ở nhóm họ gần từ 1 đến 5 trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải có sự giảm LDL-C trung bình lên đến 81% so với giả dược tại thời

điểm giảm tối đa và 75% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tại tuần 6) sau 3 liều 21B12 SC hai tuần một lần, và 66% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tại tuần 8) sau 2 liều, sau 4 liều SC một tuần một lần. Đối tượng ở nhóm từ 1 đến 5 trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải có giảm LDL-C tối đa lên đến đến 81% so với giả dược ở sự giảm tối đa và 75% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (Fig. 14). Cường độ và khoảng thời gian tác dụng phụ thuộc vào liều. PCSK9 trong huyết tương không thể phát hiện được ở các liều cao hơn. Tương tự, tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều sau 3 liều hai tuần một lần, đối tượng trên statin liều cao (nhóm 6) có sự giảm trung bình LDL-C là 63% so với giả dược, và giảm tối đa LDL-C là 73% so với giả dược (Fig. 15).

Các dữ liệu này cho thấy rằng việc lặp lại các liều lượng SC 21B12 trong 6 tuần làm giảm tuần hoàn LDL-C lên đến 81% so với giả dược, tùy theo chế độ liều, ở đối tượng trên statin liều từ thấp đến cao hoặc statin liều cao, mà không có các AE nghiêm trọng. Tác dụng làm giảm LDL-C của 21B12 có thể so sánh giữa nhóm statin liều cao và statin từ thấp đến vừa phải.

Các đối tượng ở nhóm họ gần từ 1 đến 5 trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải có giảm lượng PCSK9 đến 94% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, dữ liệu không được thể hiện. Đối tượng ở nhóm từ 1 đến 5 trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải có giảm ApoB đến 54% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và giảm tối đa nằm trong khoảng từ 48% (35mg QW) đến 59% (140mg và 280mg Q2W và 420mg Q4W) trong quá trình thử nghiệm ($p < 0,001$) (Fig. 16). Ngoài ra, đối tượng ở nhóm từ 1 đến 6 trên các liều lượng statin từ thấp đến vừa phải và liều cao có giảm Lp(a) đến 43% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (Fig. 17).

Các đối tượng ở nhóm họ gần 7 với heFH có sự giảm trung bình LDL-C là 65% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau liều hai tuần một lần thứ ba SC của 21B12), và giảm LDL-C tối đa 70% so với giả dược (Fig. 18). Việc giảm LDL-C trong khoảng thời gian dùng

theo liều tương đương với việc giảm quan sát được ở đối tượng mà không có heFH. Sau khi điều trị 21B12, PCSK9 tuần hoàn không phát hiện ở các đối tượng heFH.

Các đối tượng ở nhóm họ gần 7 có heFH có giảm trung bình các trị số PCSK9 trong huyết thanh 78% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau khi liều hai tuần một lần thứ ba SC của 21B12) (Fig. 19). Đối tượng trong nhóm họ gần 7 có heFH có giảm trung bình với tổng lượng cholesterol đến 42% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau liều hai tuần một lần SC của 21B12), và cholesterol tổng giảm tối đa 47% so với giả dược (Fig. 20). Đối tượng ở nhóm họ gần 7 có heFH có giảm trung bình cholesterol không có HDL là 61% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau liều hai tuần một lần thứ ba SC của 21B12), và giảm tối đa cholesterol không có HDL là 67% so với giả dược (Fig. 21). Đối tượng ở nhóm họ gần 7 có heFH có giảm trung bình lượng ApoB đến 47% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau khi liều hai tuần một lần thứ ba SC của 21B12), và giảm tối đa ApoB là 57% so với giả dược (Fig. 22). Đối tượng trong nhóm họ gần 7 có heFH có giảm trung bình lipoprotein a (Lp(a)) là 50% so với giả dược tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều (tức là tuần 6, 2 tuần sau khi liều hai tuần một lần thứ ba SC của 21B12) (Fig. 23).

Trong nhóm họ gần 7, 21B12 làm giảm hàm lượng PCSK9 không liên kết và hầu như các hàm lượng tuần hoàn LDL-C thấp ở đối tượng có heFH và chứng tăng lipit huyết tiếp nhận điều trị chăm sóc chuẩn. Liều hai tuần một lần được thử tạo ra việc giảm LDL-C ở đối tượng heFH tương đương với các đối tượng không có heFH. Không có AE nghiêm trọng được báo cáo.

VÍ DỤ 22

Nghiên cứu có kiểm soát giả dược, ngẫu nhiên, mù kép để đánh giá khả năng dung nạp và tính hiệu quả của kháng thể kháng PCSK9 của người ở các bệnh nhân mắc chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá tác dụng trong 12 tuần của kháng thể kháng PCSK9 (kháng thể đơn dòng 21B12) của người dùng dưới da (SC) so với giả dược, đối với mức thay đổi theo tỷ lệ phần trăm so với đường chuẩn về lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp (LDL-C) ở đối tượng mắc chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử (HeFH).

Nghiên cứu này là thử nghiệm lâm sàng có kiểm soát giả dược, phân nhóm, ngẫu nhiên, mù kép đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp, và tính hiệu quả của kháng thể đơn dòng 21B12 ở đối tượng có chẩn đoán HeFH. Việc kết nạp tổng 150 đối tượng được dự kiến. Đối tượng đáp ứng tất cả các tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ sẽ được chọn ngẫu nhiên với sự chỉ định tương đương thành 3 nhóm điều trị: kháng thể đơn dòng, 21B12 ở 350mg hoặc 420mg Q4W SC (4 tuần một lần, dưới da) hoặc giả dược Q4W SC. Việc chọn ngẫu nhiên sẽ được phân nhóm bằng cách sàng lọc hàm lượng LDL-C (< 130mg/dL [3,4mmol/L] so với ≥ 130mg/dL) và sử dụng ezetimibe tại đường chuẩn (có so với không). Việc chọn ngẫu nhiên nên xảy ra trong từ 5 đến 10 ngày đánh giá LDL-C bằng sàng lọc được dùng để xác định tính khả thi. Kháng thể đơn dòng, 21B12, và giả dược sẽ được làm mù. Nghiên cứu được quan sát tại các tuần 2, 4, 8, và 12. Việc dùng lần cuối kháng thể đơn dòng, 21B12, hoặc giả dược tại tuần 8. Lần cuối nghiên cứu (EOS) và đánh giá lần cuối về lipit là tại tuần 12.

Nam giới và nữ giới, độ tuổi ≥ 18 đến ≤ 75 tuổi, và có chẩn đoán chứng tăng cholesterol huyết di truyền dị hợp tử bằng tiêu chuẩn chẩn đoán của Nhóm đăng ký Simon Broome (Simon Broome Register Group - SBRG), là khả thi cho thử nghiệm này. Để tham gia, đối tượng phải dựa trên statin được phê chuẩn, với các liều ổn định với tất cả các thuốc điều hòa lipit được cho phép (ví dụ, ezetimibe, nhựa càng hóa axit mật, stanol, hoặc niaxin được phê duyệt theo quy định và có bán trên thị trường (ví dụ, Niaspan hoặc Niacor)) trong ít nhất 4 tuần trước khi sàng lọc LDL-C và, theo quan điểm của điều tra viên, không yêu cầu sự chuẩn độ tăng dần. LDL-C lúc nhịn đói phải ≥ 100mg/dL (2,6mmol/l) và triglyxerit lúc nhịn đói ≤ 400mg/dL (4,5mmol/l) bằng phòng thí nghiệm trung tâm tại lúc sàng lọc.

Dữ liệu sơ bộ (dữ liệu không được thể hiện) đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm phần trăm trung bình bình phương tối thiểu (LS) từ đường chuẩn LDL-C là 38,46% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với LDL-C là 45,68%. Đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với Lp(a) là 21,69% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với Lp(a) là 28,23%. Đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với HDL-C là 15,39% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với HDL-C là 6,77%. Đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với VLDL-C là 17,16% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với VLDL-C là 18,49%. Đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với triglyxerit là 17,24% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với triglyxerit 4,56%. Đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol không có HDL là 36,16% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol không có HDL là 41,81%. Cuối cùng, đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol tổng bằng 24,82% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều, và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol tổng bằng 29,45% (dữ liệu không được thể hiện).

Fig. 24 là đồ thị thể hiện dữ liệu giảm LDL-C theo các liều lượng sau đây của 21B12: 70mg, 105mg và 140mg (dùng theo liều Q2W hoặc hai tuần một lần) và 280mg, 350mg và 420 (dùng theo liều Q4W hoặc mỗi tháng một lần). Dữ liệu này là các dữ liệu kết hợp từ các nghiên cứu được mô tả trong các ví dụ từ 22 đến 25). Tóm lại, các dữ liệu kết hợp cho thấy rằng 140mg Q2W dẫn đến sự giảm khoảng 60% từ đường chuẩn với LDL-C tại tuần 12 và duy trì ổn định sự giảm LDL-C. Ngoài ra, dữ liệu này cho thấy rằng 420mg Q4W dẫn đến giảm 56% từ đường chuẩn với LDL-C tại tuần 12 và LDL-C ít hơn được liên kết lại tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều.

Fig. 25A-25D là biểu đồ dạng cột thể hiện tác dụng có lợi của các liều lượng của 21B12 đối với Lp(a), HDL-C, triglyxerit và VLDL-C, một cách tương ứng, thu được từ các dữ liệu kết hợp từ các nghiên cứu được bộc lộ trong các ví dụ từ 22 đến 25. Ngoài ra, việc làm giảm phụ thuộc vào liều từ đường chuẩn được quan sát đối với cholesterol tổng (từ 25 đến 37%, giá trị p <0,001), không có HDL-C (từ 36 đến 53%, giá trị p <0,001), và ApoB (từ 36 đến 53%, trị số p < 0,001) (dữ liệu không được thể hiện).

VÍ DỤ 23

Nghiên cứu ngẫu nhiên để đánh giá khả năng dung nạp và tính hiệu quả của kháng thể kháng PCSK9 của người đối với LDL-C so với Ezetimibe các bệnh nhân mắc chứng tăng cholesterol huyết không có khả năng dung nạp liều có hiệu quả của chất ức chế HMG-Co-A Reductaza

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá tác dụng trong 12 tuần của kháng thể kháng PCSK9 (kháng thể đơn dòng 21B12) của người, dùng dưới da (SC) so với ezetimibe, đối với mức thay đổi theo phần trăm so với đường chuẩn về lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp (LDL-C) ở đối tượng mắc chứng tăng cholesterol huyết không có khả năng dung nạp liều có hiệu quả của chất ức chế HMG-CoA reductaza.

Nghiên cứu này là thử nghiệm lâm sàng nhóm song song, ngẫu nhiên, phân nhóm đối với kháng thể kháng PCSK9 của người, kháng thể đơn dòng, 21B12. Dự

định sẽ kết nạp 150 đối tượng. Đối tượng đáp ứng tất cả các tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ sẽ được chọn ngẫu nhiên với sự chỉ định tương đương thành 5 nhóm điều trị: kháng thể đơn dòng, 21B12 ở 280mg, 350mg hoặc 420mg Q4W SC (4 tuần một lần, dưới da); ezetimibe ở 10mg hằng ngày (QD) qua đường miệng (PO) với kháng thể đơn dòng, 21B12 ở 420mg Q4W SC; hoặc ezetimibe 10mg QD PO với giả dược Q4W SC. Việc chọn ngẫu nhiên sẽ được phân nhóm bằng cách sàng lọc hàm lượng LDL-C (< 130mg/dL [3,4mmol/L] so với ≥ 130mg/dL) và sử dụng statin tại đường chuẩn (có so với không). Việc chọn ngẫu nhiên nên xảy ra trong từ 5 đến 10 ngày đánh giá bằng sàng lọc LDL-C được dùng để xác định tính khả thi. Kháng thể đơn dòng, 21B12, và giả dược sẽ được làm mù. Ezetimibe không được làm mù. Các lần nghiên cứu tại các tuần 2, 4, 8, và 12. Việc dùng lần cuối kháng thể đơn dòng, 21B12, hoặc giả dược tại tuần 8. Lần cuối nghiên cứu và đánh giá lần cuối lipit là tại tuần 12.

Nam giới và nữ giới, độ tuổi từ ≥ 18 đến ≤ 75 tuổi, có đủ điều kiện cho thử nghiệm này. Đối tượng phải được thử ít nhất 1 statin và không thể dung nạp liều bất kỳ hoặc làm tăng liều statin trên tổng liều tối đa hằng tuần sau đây do chứng đau cơ hoặc bệnh về cơ: atorvastatin ≤ 70mg, simvastatin ≤ 140mg, pravastatin ≤ 140mg, rosuvastatin ≤ 35mg, lovastatin ≤ 140mg, fluvastatin ≤ 280mg. Đối với các statin chưa được liệt kê, tổng liều hằng tuần tối đa không nên vượt quá 7 lần cỡ viên nén nhỏ nhất có sẵn. Các triệu chứng phải được giải quyết khi statin được dùng gián đoạn hoặc giảm liều. Nếu tiếp nhận statin (không vượt qua liều tối đa nêu trên), nhựa càng hóa axit mật, và/hoặc liệu pháp stanol, (các) liều phải ổn định trong ít nhất là 4 tuần trước khi sàng lọc LDL-C. Nếu đối tượng dùng ezetimibe lúc bắt đầu sàng lọc, ezetimibe phải được dùng gián đoạn ≥ 4 tuần trước khi sàng lọc LDL–C. Tùy theo phân loại rủi ro (trên cơ sở mục đích điều trị NCEP ATP III), đối tượng phải đáp ứng các tiêu chuẩn LDL-C lúc nhịn đói sau đây (bằng phòng thí nghiệm trung tâm) tại lúc sàng lọc: ≥ 100mg/dL (2,6mmol/l) cho đối tượng được chẩn đoán bệnh tim mạch vành (CHD) hoặc nguy cơ CHD tương đương; ≥ 130mg/dL (3,4mmol/l) cho đối tượng không được chẩn đoán CHD hoặc nguy cơ tương đương và 2 hoặc nhiều yếu tố nguy cơ; ≥ 160mg/dL (4,1mmol/l) cho đối

tượng không được chẩn đoán CHD hoặc nguy cơ tương đương và có 1 hoặc không có các yếu tố nguy cơ. Triglyxerit lúc nhịn đói phải ≤ 400mg/dL (4,5mmol/l) như được xác định theo phân tích của phòng thí nghiệm trung tâm tại lúc sàng lọc.

Dữ liệu sơ bộ (dữ liệu không được thể hiện) đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với LDL-C là 38,79% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với LDL-C là 40,01% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với LDL-C là 50,63%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với Lp(a) là 27,38% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với Lp(a) là 16,04% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với Lp(a) là 23,84%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với HDL-C là 8,62% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với HDL-C là 4,62% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với HDL-C là 7,55%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với VLDL-C là 31,02% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với VLDL-C là 38,14% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với VLDL-C là 37,27%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg

21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với triglyxerit là 15,35% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với triglyxerit là 19,22% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với triglyxerit là 19,55%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol tổng bằng 31,03% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol tổng bằng 34,46% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với cholesterol tổng bằng 42,23%. Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với không HDL-C là 39,92% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với non-HDL-C là 42,86% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn với không HDL-C là 53,49%.

VÍ DỤ 24

Nghiên cứu khoảng liều, có kiểm soát Ezetimibe và giả dược, ngẫu nhiên để đánh giá khả năng dung nạp và tính hiệu quả của kháng thể kháng PCSK9 của người đối với LDL-C ở các bệnh nhân mắc chứng tăng cholesterol huyết có điểm nguy cơ Framingham 10 năm là 10% hoặc thấp hơn

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá tác dụng trong 12 tuần của kháng thể kháng PCSK9 (kháng thể đơn dòng 21B12) của người, dùng dưới da (SC), 2 tuần một lần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W), so với giả dược, đối với mức thay đổi theo phần trăm so với đường chuẩn với lipoprotein cholesterol tỷ

trọng thấp (LDL-C) khi được sử dụng làm liệu pháp đơn trị ở đối tượng mắc chứng tăng cholesterol huyết có điểm nguy cơ Framingham 10 năm là 10% hoặc thấp hơn.

Nghiên cứu này là thử nghiệm lâm sàng khoảng liều nhóm song song, ngẫu nhiên, phân nhóm, giả dược và có kiểm soát ezetimibe đối với kháng thể kháng PCSK9 của người, kháng thể đơn dòng, 21B12, kết nạp 411 đối tượng. Các đối tượng mà đáp ứng tất cả các tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ được chọn ngẫu nhiên với sự chỉ định tương đương thành 9 nhóm điều trị: 1 trong 6 chế độ liều kháng thể đơn dòng, 21B12 (70mg, 105mg, hoặc 140mg Q2W SC, hoặc 280mg, 350mg hoặc 420mg Q4W SC (4 tuần một lần, dưới da), giả dược với Q2W hoặc Q4W dùng dưới da, hoặc ezetimibe dùng hằng ngày (QD) qua đường miệng (PO). Việc chọn ngẫu nhiên được phân nhóm bằng cách sàng lọc hàm lượng LDL-C (<130mg/dL [3,4mmol/L] so với > 130mg/dL). Việc chọn ngẫu nhiên xảy ra trong từ 5 đến 10 ngày đánh giá LDL-C sàng lọc được dùng để xác định tính khả thi. Các lần nghiên cứu là 2 tuần một lần, không kể liệu đối tượng có tiếp nhận việc điều trị Q2W SC hoặc Q4W hoặc ezetimibe không. 3 nhóm liều Q2W của kháng thể đơn dòng, nhóm giả dược 21B12, và 1 Q2W được làm mù với nhau, và 3 nhóm liều Q4W và 1 nhóm giả dược Q4W được làm mù với nhau. Ezetimibe không được làm mù. Lần cuối nghiên cứu và đánh giá lần cuối lipit là tại tuần 12 đối với đối tượng theo lịch trình Q4W IP hoặc ezetimibe và tuần 14 đối với đối tượng theo lịch trình Q2W IP.

Nam giới và nữ giới, độ tuổi ≥ 18 đến ≤ 75 tuổi, có đủ điều kiện cho thử nghiệm này. LDL-C lúc nhịn đói là ≥ 100mg/dL (2,6mmol/l) và < 190mg/dL (4,9mmol/l) và triglyxerit lúc nhịn đói ≤ 400mg/dL (4,5mmol/l) bằng phòng thí nghiệm trung tâm tại lúc sàng lọc. Đối tượng có điểm nguy cơ Framingham (National Cholesterol Education Panel Adult Treatment Panel III -NCEP ATP III) là 10% hoặc thấp hơn.

Điểm cuối thứ nhất là mức thay đổi theo phần trăm so với đường chuẩn với LDL-C tại tuần 12. Điểm cuối thứ hai bao gồm các thay đổi theo phần trăm về apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein (a) (Lp(a)), và theo tỷ lệ của cholesterol tổng

so với lipoprotein tỷ trọng cao (HDL)-C. Khả năng dung nạp và độ an toàn cũng được đánh giá.

Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 41,21% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 45,44% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 51,56% (dữ liệu không được thể hiện).

Dữ liệu sơ bộ đã chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q4W) có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 37,53% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 42,16% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng theo liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình từ đường chuẩn với LDL-C là 47,52% (dữ liệu không được thể hiện).

Dữ liệu cuối cùng đã chứng minh rằng tại tuần 12, đối tượng tiếp nhận 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình bình phương tối thiểu (LS) từ đường chuẩn với LDL-C là đến 51% (Bảng 12); mức thay đổi theo phần trăm so với đường chuẩn với ezetimibe là 14%. Sự thay đổi từ đường chuẩn đến tuần 12 là lên đến 72mg/dL lớn hơn 21B12 so với giả dược. Đối tượng tiếp nhận 21B12 có sự giảm LDL-C từ đường chuẩn từ 37% đến 53% lớn hơn giả dược và 37% lớn hơn ezetimibe. Việc giảm trung bình từ đường chuẩn đối với ApoB (lên đến 44%), Lp(a) (lên đến 29%) và tỷ lệ của cholesterol tổng/HDL (lên đến 38%) là lớn hơn 21B12 so với giả dược.

BẢNG 12

Mức thay đổi theo phần trăm vào tuần 12 so với đường chuẩn với LDL-C: SC 21B12 đối với Ezetimibe hoặc giả dược

	Q2W				Q4W				
	Giả dược (N=45)	70mg (N=45)	105mg (N=46)	140mg (N=45)	Giả dược (N=45)	280mg (N=45)	350mg (N=45)	420mg (N=45)	Ezetimibe QD (N=45)
Mức thay đổi theo phần trăm trung bình bình phương tối thiểu so với đường chuẩn (%)	-3,71	-40,98	-43,87	-50,93	4,54	-39,02	-43,20	-47,98	-14,26
Sự khác nhau về việc điều trị so với giả dược (%)	-	-37,27*	-40,17*	-47,23*	-	-43,57*	-47,74*	-52,53*	-
Sự khác nhau về việc điều trị so với ezetimibe (%)	-	-26,73*	-29,62*	-36,68*	-	-25,17*	-29,34*	-34,14*	-

SC: dưới da Q2W: 2 tuần một lần; Q4W: 4 tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần; QD: hằng ngày

* $P < 0,001$

VÍ DỤ 25

Nghiên cứu khoảng liều, mù kép, ngẫu nhiên, có kiểm soát giả dược để đánh giá khả năng dung nạp và tính hiệu quả của kháng thể kháng PCSK9 của người đối với LDL-C kết hợp với các chất ức chế HMG-Co-A reductaza ở bệnh nhận mắc chứng tăng cholesterol huyết

Mục đích của thử nghiệm này là đánh giá tác dụng trong 12 tuần của kháng thể kháng PCSK9 (kháng thể đơn dòng 21B12) của người, dùng dưới da (SC), hai tuần một lần (Q2W) hoặc 4 tuần một lần (Q4W), so với dùng giả dược, đối với mức thay đổi theo phần trăm so với đường chuẩn về lipoprotein cholesterol tỷ

trọng thấp (LDL-C) khi được sử dụng ngoài chất ức chế HMG-Co-A reductaza (ví dụ, statin) ở đối tượng mắc chứng tăng cholesterol huyết.

Nghiên cứu này là thử nghiệm lâm sàng khoảng liều nhóm song song, mù kép, ngẫu nhiên, phân nhóm, có kiểm soát giả dược đối với kháng thể kháng PCSK9 của người, kháng thể đơn dòng, 21B12, kết nạp 631 đối tượng. Đối tượng là người mà (các) liều ổn định trong ít nhất 4 tuần điều trị bằng statin có hoặc không có ezetimit và người mà đáp ứng tất cả các tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ sẽ được phân nhóm ngẫu nhiên với sự chỉ định tương đương thành 8 nhóm điều trị: kháng thể đơn dòng, 21B12 dưới da (SC) (70mg Q2W, 105mg Q2W, 140mg Q2W, 280mg Q4W, 350mg Q4W, và 420mg Q4W, giả dược Q2W SC, hoặc giả dược Q4W SC). Việc chọn ngẫu nhiên sẽ được phân nhóm bằng cách sàng lọc hàm lượng LDL-C (<130mg/dL [3,4mmol/L] vo với ≥130mg/dL) và sử dụng ezetimibe tại đường chuẩn (có so với không). Việc chọn ngẫu nhiên sẽ xảy ra trong từ 5 đến 10 ngày đánh giá LDL-C sàng lọc được dùng để xác định tính khả thi. Các lần nghiên cứu là 2 tuần một lần, không kể liệu đối tượng có tiếp nhận việc điều trị Q2W SC hoặc Q4W không. 3 nhóm dùng liều Q2W gồm kháng thể đơn dòng, 21B12, và 1 nhóm giả dược Q2W sẽ được làm mù với nhau, và 3 nhóm dùng liều Q4W và nhóm giả dược 1 Q4W sẽ được làm mù với nhau. Việc cuối nghiên cứu và đánh giá lần cuối lipit tại tuần 12 đối với đối tượng theo lịch trình Q4W IP và tuần 14 đối với đối tượng theo lịch trình Q2W IP.

Nam giới và nữ giới, độ tuổi từ ≥ 18 đến ≤ 80 tuổi, là đủ điều kiện cho thử nghiệm này. Để tham gia, các đối tượng phải được cho dùng statin, có hoặc không có ezetimit, với (các) liều ổn định trong ít nhất 4 tuần trước khi sàng lọc LDL-C và không cần chuẩn độ tăng. LDL-C lúc nhịn đói khi sàng lọc phải là ≥ 85mg/dL (2,2mmol/l). Sự tham gia của đối tượng có LDL-C lúc nhịn đói khi sàng lọc nằm trong khoảng từ ≥ 85mg/dL (2,2mmol/l) đến < 100mg/dL (2,6mmol/l) sẽ được giới hạn đến không nhiều hơn khoảng 20% tổng số các đối tượng kết nạp được dự kiến. Triglyxerit lúc nhịn đói phải là ≤ 400mg/dL (4,5mmol/l) như được xác định theo phân tích phòng thí nghiệm trung tâm khi sàng lọc.

Các dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn đối với LDL-C là 39,22% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong LDL-C là 56,38% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong LDL-C là 68,76% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong Lp(a) là 21,17% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong Lp(a) là 33,41% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong Lp(a) là 33,87% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 21,17% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 6,80% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 8,43% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 14,84% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 12,75% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 45,14% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS

từ đường chuẩn trong triglyxerit là 7,20% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong triglyxerit of 5,65% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong triglyxerit of 17,60% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 36,20% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 51,20% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 64,61% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 70mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 26,33% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 105mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 36,91% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 140mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 46,17% (dữ liệu không được thể hiện).

Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q4W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong LDL-C là 42,62% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong LDL-C là 56,84% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong LDL-C là 52,19% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong

Lp(a) là 22,54% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong Lp(a) là 29,43% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong Lp(a) là 23,29% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 2,17% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 6,92% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự tăng theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong HDL-C là 7,42% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 18,12% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 20,89% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong VLDL-C là 28,66% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong triglyxerit là 6,75% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong triglyxerit là 9,17% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong triglyxerit là 11,13% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 38,89% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo

phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 50,83% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn khi không có HDL-C là 48,54% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ban đầu chứng minh rằng đối tượng được điều trị bằng 280mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 28,08% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; đối tượng được điều trị bằng 350mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 36,04% tại thời điểm cuối của khoảng thời gian dùng liều; và đối tượng được điều trị bằng 420mg 21B12 (Q2W) có sự giảm theo phần trăm trung bình LS từ đường chuẩn trong cholesterol tổng là 42,76% (dữ liệu không được thể hiện).

VÍ DỤ 26

PCSK9 ABP còn được điều tiết tăng LDLR với sự có mặt của statin

Ví dụ này thể hiện rằng ABP đến PCSK9 tạo ra sự tăng tiếp trong LDLR sẵn có khi được dùng với sự có mặt của statin, thể hiện rằng các lợi ích có thể đạt được bằng việc sử dụng cả hai.

Tế bào HepG2 được cấy trong DMEM với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) và được sinh trưởng đến độ hợp dòng bằng 90%. Các tế bào được xử lý bằng lượng được chỉ định của mevinolin (statin, Sigma) và PCSK9 ABP (Các Fig. 12A đến 12C) trong DMEM với 3% FBS trong 48 giờ. Tổng số dịch dung giải tế bào được điều chế. Tách 50mg protein tổng số theo phương pháp điện di gel và chuyển sang màng PVDF. Các vết thấm tách miễn dịch được thực hiện bằng cách sử dụng kháng thể của thỏ kháng thụ thể LDL của người (Fitzgerald) hoặc kháng thể của thỏ kháng b-actin của người. Các kết quả phát quang hóa học được tăng cường được thể hiện trong khối trên của các Fig. 12A đến 12C. Mật độ của dải được định lượng bằng phần mềm ImageJ và được chuẩn hóa bằng b-actin. Lượng tương đối của LDLR trong các panen dưới trên các Fig. 12A-12C. ABP 21B12 và 31H4 là các kháng thể trung hòa PCSK9, trong khi 25A7.1 là kháng thể không trung hòa.

Tế bào HepG2-PCSK9 cũng được tạo ra. Có dòng tế bào HepG2 ổn định đã được chuyển nhiễm với PCSK9 của người. Các tế bào được gieo giống trong DMEM với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) và được sinh trưởng đến độ hợp dòng khoảng 90%. Các tế bào được xử lý bằng lượng được chỉ định của mevinolin (do Sigma cung cấp) và PCSK9 ABP (Các Fig. 12D đến 12F) trong DMEM với 3% FBS trong 48 giờ. Tổng số dịch dung giải tế bào được điều chế. Tách 50mg protein tổng số theo phương pháp điện di gel và chuyển sang màng PVDF. Các vết thấm tách miễn dịch được thực hiện bằng cách sử dụng thụ thể kháng thể của thỏ kháng thụ thể LDL của người (Fitzgerald) hoặc kháng thể của thỏ kháng b-actin của người. Các kết quả chất phát quang hóa học được tăng cường được thể hiện trong khối trên. Mật độ của dải được định lượng bằng phần mềm ImageJ và được chuẩn hóa bằng b-actin.

Như có thể được nhìn thấy trong các kết quả được thể hiện trên các Fig. 12A đến 12F, lượng gia tăng của kháng thể trung hòa và lượng gia tăng của statin thường thu được trong sự gia tăng trong hàm lượng của LDLR. Sự gia tăng này là hiệu quả đối với sự gia tăng hàm lượng ABP là bằng chứng đặc biệt trên các Fig. 12D đến 12F, trong đó các tế bào cũng đã được chuyển nhiễm với PCSK9, cho phép ABP chứng minh hiệu quả của chúng đến mức độ lớn hơn.

Điều quan tâm là, như được chứng minh bởi các kết quả khi so sánh các Fig. 12D đến 12F đến các Fig. 12A đến 12C, có ảnh hưởng đến của nồng độ ABP đối với hàm lượng LDLR làm tăng mạnh khi PCSK9 được tạo ra bởi các tế bào. Ngoài ra, sẽ rõ ràng rằng ABP trung hòa (21B12 và 31H4) dẫn đến sự tăng lớn hơn về hàm lượng LDLR, ngay cả khi có mặt statin, so với 25A7.1 ABP (không có chất làm trung hòa), thể hiện rằng các tác dụng bổ sung có thể đạt được bằng cách sử dụng cả statin và từ ABP đến PCSK9.

VÍ DỤ 27

Các trình tự liên ứng

Các trình tự liên ứng được xác định bằng cách sử dụng chất phân tích phát sinh loài tiêu chuẩn của các CDR tương ứng với V_H và V_L của ABP kháng PCSK9. Các trình tự liên ứng được xác định bằng cách giữ các CDR liền kề trong cùng

trình tự tương ứng với V_H hoặc V_L. Tóm lại, các trình tự axit amin tương ứng với toàn bộ miền thay đổi của V_H hoặc V_L được chuyển hóa thành FASTA tạo dạng dễ dàng trong xử lý sắp hàng so sánh và gợi ý sự phát sinh loài. Tiếp theo, các vùng khung của các trình tự được thay thế bằng trình tự liên kết nhân tạo (phần giữ chỗ "bbbbbbbbbb", cấu trúc axit nucleic không đặc hiệu) sao cho việc đánh giá các CDR đơn lẻ có thể được thực hiện mà không đưa vị trí axit amin bất kỳ ngiêng do các sự kiện trùng lặp (ví dụ, như các kháng thể không có liên quan mà chia sẻ khả năng thừa kế khung dòng mầm thông thường) trong khi vẫn giữ các CDR liền kề trong cùng trình tự tương ứng với V_H hoặc V_L. Các trình tự V_H hoặc V_L của dạng này sau đó được cho vào sự dò sắp hàng tương tự trình tự bằng cách sử dụng chương trình mà sử dụng thuật toán tiêu chuẩn tương tự ClutalW (xem: Thompson *et al.*, 1994, các axit nucleic *Res.* 22:4673-4680). Bất lợi của sự tạo ra khoảng trống 8,0 được sử dụng cùng với điểm phạt kéo dài khoảng trống bằng 2,0. Chương trình này cũng sinh ra phylogram (minh họa cây phát sinh loài) trên cơ sở sắp hàng tương tự trình tự bằng cách sử dụng UPGMA (nhóm phương pháp cặp không tăng trọng lượng bằng cách sử dụng các giá trị trung bình số học) hoặc các phương pháp Neighbor-Joining (xem: Saitou và Nei, 1987, *sinh học phân tử và Evolution* 4:406-425) để tạo cấu trúc và minh họa tính tương tự và sự khác biệt của các nhóm trình tự thông qua sự so sánh chiều dài mạch và phân nhóm. Cả hai phương pháp này tạo ra các kết quả tương tự nhưng các cấu thu được từ UPGMA sau cùng được sử dụng làm phương pháp sử dụng bộ giả định đơn giản hơn và bảo tồn tốt hơn. Các cây thu được từ UPGMA được tạo ra ở đó các nhóm tương tự gồm các trình tự được xác định là có ít hơn 15 gốc thay thế/100 gốc (xem: chú giải trong các minh họa cây đối với phạm vi) trong số các trình tự riêng rẽ trong nhóm và được sử dụng để xác định nhóm trình tự liên ứng. Kết quả của sự so sánh được thể hiện trên các Fig. 13A đến 13J và các Fig. 48 đến 49 trên Fig. 13E, các nhóm được chọn sao cho các trình tự trong chuỗi nhẹ mà nhánh này cũng là nhánh trong chuỗi nặng và có ít hơn 15 gốc thay thế.

VÍ DỤ 28

Điều chế chế phẩm PCSK9 ABP

UF/DF - Phương pháp siêu lọc/lọc thẩm tách

Các dược chất, ví dụ, kháng thể 21B12 và kháng thể 11F1, được trao đổi dung dịch đệm vào dung dịch đệm điều chế, bao gồm chất làm ổn định, với hệ Millipore TFF UF/DF bằng cách sử dụng bộ lọc Millipore Pellicon XL, kích cỡ màng 50cm^2 (xenluloza được tạo ra, 30.000 phân tử lượng giới hạn). Bước lọc thẩm tách được thực hiện cho đến khi ít nhất mười thể tích dung dịch đệm thẩm tách được trao đổi. Ngay khi bước lọc thẩm thách được hoàn thành, hệ UF/DF được chuyển mạch thành phương thức siêu lọc và mỗi chế phẩm được cô đến hàm lượng nồng độ đích.

Sau khi bước UF/DF được hoàn thành, lượng thích hợp của Polysorbate 20 hoặc 80 được bổ sung vào mỗi chế phẩm từ 1,0% (trọng lượng) dung dịch gốc polysorbate ("PS") mới được điều chế để đạt đến nồng độ polysorbate mong muốn.

Trước khi làm đầy vật chứa ban đầu, mỗi chế phẩm được lọc hầu như là trong dòng chảy lớp và bằng cách sử dụng bộ lọc 0,2 micron. Việc lọc cũng được thực hiện một cách vô trùng và thực hiện bằng tay hoặc một tách tự động bằng cách sử dụng dụng cụ lọc thích hợp.

VÍ DỤ 29

Chế phẩm PCSK9 ABP nồng độ cao có độ nhớt thấp

Để đánh giá các tác dụng của các tá dược khác nhau đối với độ nhớt của nồng độ protein cao, thử nghiệm sàng lọc theo độ nhớt, độ ổn định và độ hòa tan được sử dụng để phát hiện các chất điều biến độ nhớt tá dược đối với chế phẩm có nồng độ protein cao. Cụ thể là, tất cả mẫu chuẩn bị, ví dụ, mẫu kháng thể 21B12, được thực hiện một cách vô trùng trong dòng chảy lớp. Đông khô nhanh các mẫu được thử cho phép phương pháp đơn giản đạt được nồng độ protein cao. 1,5ml 70mg/ml protein (ví dụ, 21B12) được hút bằng pipet vào lọ thủy tinh 3cc để đông khô nhanh. Đông khô nhanh được thực hiện bằng cách sử dụng chu trình đông khô nhanh trên thiết bị làm đông khô quy mô phòng thí nghiệm VirTis (VirTis Lab Scale Lyophilizer). Việc đông khô nhanh dung dịch đệm là 10mM L-glutamat với 1,0% sucroza, độ pH = 4,8. Các mẫu đã được đông khô nhanh (ví dụ, mẫu 21B12

đã được đông khô nhanh) được tái cấu trúc một cách đơn lẻ với khoảng 0,65ml dung dịch đệm chứa tá dược, thể hiện trong Bảng 13 dưới dây, đến protein cô cuối cùng từ 150 đến 200mg/ml. Các mẫu được cấu trúc lại được để qua đêm để cho phép hòa tan hoàn toàn. Sau đó, đo độ nhớt được nêu dưới đây.

BẢNG 13

Loại tá dược	Hàm lượng tá dược	Độ pH được điều chỉnh
Axit amin	150mm L-Alanin	độ pH = 4,5
	150mm L-Glyxin	độ pH = 4,2
	75mm L-Lysin	độ pH = 4,2
	150mm L-Methionin	độ pH = 4,5
	150mm L-Prolin	độ pH = 4,2
	150mm L-Serin	độ pH = 4,2
	70mm L-Arginin	độ pH = 4,5
	150mm L-Serin	độ pH = 4,4
Muối	30mm Magie clorua	độ pH = 4,2
	70mM natri clorua	độ pH = 4,2
	30mm Canxi clorua	độ pH = 4,4
	50mM natri sulfat	độ pH = 4,1
	30mM kẽm clorua	độ pH = 4,7
Rượu polyhyđric	150mm Glyxerol	độ pH = 4,5
	150mm Sucroza	độ pH = 4,2
Thành phần khác	150mm Carnitin	độ pH = 4,8
	150mm Creatinin	độ pH = 5,0
	150mm Taurin	độ pH = 4,4

Các kết quả của việc sàng lọc theo độ nhớt, độ ổn định, độ hòa tan thể hiện các thay đổi theo độ nhớt 21B12 sau khi bổ sung các tá dược khác nhau (Fig. 26). Không phải tất cả các tá dược được dùng trong mục đích sàng lọc đều làm giảm độ nhớt của dung dịch; việc bổ sung L-alanin, glyxerol, natri sulfat, sucroza, và kẽm clorua dẫn đến độ nhớt cao hơn nhiều so với mẫu đối chứng. Vài các tá dược được dùng trong sàng lọc được xuất hiện là ứng viên điều biến độ nhớt tốt, ví dụ, L-arginin, carnitin, creatinin, L-methionin, và taurin.

Để đánh giá các tác dụng của các chế phẩm khác nhau đối với độ nhớt của PCSK9 ABP đặc hiệu, các dược phẩm chứa 21B12 được bào chế thành sáu chế phẩm khác nhau thể hiện trong bảng 29.2 dưới đây. Nồng độ của 21B12 trong tất cả các chế phẩm là 134mg/ml. Các dược phẩm được làm đầy đến thể tích cuối

cùng 1,0ml trong lọ nhỏ. Các dược phẩm được ủ ở nhiệt độ trong phòng (tức là 25°C) .

Thẩm thách và cô 21B12

Việc loại bỏ sucroza ra khỏi 21B12 ban đầu trong 10mM natri axetat, 9,0% (trọng lượng/thể tích) sucroza đạt được qua sự thẩm tách bằng cách bổ sung khoảng 10ml 21B12 vào caxet thẩm tách Pierce Slide-A-Lyzer (Rockford, IL) và thẩm tách đối với 2L dung dịch đệm ở 4°C trong 3 vòng (2 giờ x 2 và 16 giờ x 1) để trao đổi hoàn toàn dung dịch đệm. Dung dịch đệm dùng cho thẩm tách chứa 10mM natri axetat (được tạo ra từ axit axetic) ở độ pH=5,0. Tất cả các mẫu sau đó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Millipore Amicon UltraPrep (Billerica, MA) trong thiết bị ly tâm quay Beckman Coulter Allegra 6R (Fullerton, California) ở 3000 vòng/phút cho đến khi thể tích mẫu giảm không đáng kể dưới thể tích yêu cầu đối với nồng độ mong muốn.

Sau đó, việc xác định nồng độ được thực hiện bằng cách đo độ hấp thụ ở A280 bằng cách sử dụng quang phổ kế Agilent 8453 (Santa Clara, California). Nồng độ protein được tính bằng cách sử dụng hệ số tắt thích hợp. Lượng thích hợp của dung dịch đệm sau đó được bổ sung vào mẫu để pha loãng mẫu trở lại nồng độ mong muốn và A280 khác được thực hiện để thu được nồng độ cuối cùng dùng cho thử nghiệm.

Bổ sung các chất làm ổn định mà còn có thể làm giảm độ nhớt:

Các tá dược, như prolin, rượu benzylic, creatinin, methionin, taurin, v.v., được thử để làm giảm độ nhớt. Các tá dược được bổ sung một cách riêng rẽ vào các mẫu chế phẩm 21B12 từ dung dịch gốc có nồng độ cao.

Đo độ nhớt

Độ nhớt được đo bằng cách sử dụng dụng cụ đo hình nón và phẳng Brookfield LV-DVII (Middleboro, Massachusetts) với trục quay CPE-40 với nhiệt độ cốc hợp được điều tiết bằng cách tuần hoàn bể nước ở nhiệt độ không đổi 25°C. 500ul mẫu được bổ sung vào cốc mẫu với các pipet piston (posive displacement pipettor). Sau khi cốc mẫu được giữ chặt, tốc độ quay của trục quay được tăng từ

từ cho đến khi đạt được mô men quay khoảng 80%. Ở thời điểm này, tốc độ quay được cho ngừng và việc đọc độ nhớt được tạo ra bằng phần mềm Rheocalc.

BẢNG 14

Dung dịch đệm	Chất làm ổn định	Chất làm ổn định/Các tá dược được bổ sung vào độ nhớt thấp	Độ nhớt (cP)
10mm Na axetat			42,4
10mm Na axetat	9,0% sucroza	2% L-Prolin (174mM)	20,3
10mm Na axetat	9,0% sucroza	3% L-Prolin (261mM)	17,9
10mm Na axetat	9,0% sucroza	3% rượu benzylic	17,8
10mm Na axetat	9,0% sucroza	150mm Creatinin	11,97
10mm Na axetat	9,0% sucroza	150mm L-Methionin	16,0
10mm Na axetat	9,0% sucroza	150mm L-Taurin	16,8

Các kết quả cho thấy rằng tất cả L-prolin, rượu benzylic, creatinin, methionin và taurin có độ nhớt làm giảm đáng kể tác dụng trong nồng độ cao của PCSK9 ABP, 21B12 (xem Bảng 14) .

Để đánh giá tiếp các tác dụng của các chế phẩm khác nhau đối với PCSK9 ABP đặc hiệu, các dược phẩm chứa 21B12 được bào chế thành các chế phẩm khác nhau thể hiện trong bảng 15 dưới đây. Các chế phẩm được chia thành ba nhóm: (1) bộ nồng độ khác nhau của 21B12 trong 10mM natri dung dịch đệm axetat, độ pH = 5,2, (2) bộ nồng độ khác nhau của 21B12 trong 10mM natri dung dịch đệm axetat, độ pH = 5,2 với 3% (khoảng 261mM) L-Prolin được gắn vào mỗi mẫu và (3) bộ mẫu 21B12 được cô khoảng từ 117 đến 134mg/ml trong 10mM natri dung dịch đệm axetat ở mức độ pH khác nhau (từ 4,0 đến 5,5) cộng với hai mẫu trong 10mM natri dung dịch đệm axetat, độ pH = 5,2 với NaCl hoặc hỗn hợp L-Methionin/rượu benzylic được bổ sung vào.

BẢNG 15

Nồng độ 21B12 (mg/ml)	Chế phẩm	Các tá dược bổ sung	Độ nhớt (Cp) ở 25°C	Độ nhớt (Cp) ở 40°C	Nồng độ molal đồng thẩm áp (mOsmol/kg)
76	10mM Na axetat, độ	N/A	2,84		53

	pH = 5,2				
104	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	N/A	7,1		57
126	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	N/A	16	8,9	58
154	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	N/A	101	49	Không đông khô
73	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	+ 3% prolin	2,6		253
104	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	+ 3% prolin	5		252
122	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	+ 3% prolin	8,8		274
148	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	+ 3% prolin	24,4	9,5	301
125	10mM Na axetat, độ pH = 5,2	+ 150mm NaCl	11	6,6	346
134	10mM Na axetat, pH 4	N/A	13,3	8,87	59
117	10mM Na axetat, pH 4,5	N/A	10,8	6	59
130	10mM Na axetat, pH 5	N/A	16,2	7,1	59
133	10mM Na axetat, pH 5,5	N/A	23	12,6	64
134	10mM Na axetat, pH 5,5	+ 150mM methionin và 3% rượu benzylic	6,5		520

Các kết quả cho thấy rằng L-Prolin có tác dụng làm giảm độ nhớt đáng kể trong nồng độ cao của PCSK9 ABP, 21B12 (xem Fig. 27).

Để đánh giá tiếp các tác dụng của các chế phẩm khác nhau đối với PCSK9 ABP đặc hiệu, các dược phẩm chứa 21B12 được bào chế thành các chế phẩm khác nhau thể hiện trong Bảng 16 dưới đây.

BẢNG 16

Nồng độ 21B12 (mg/ml)	Chế phẩm	Các tá dược	Độ nhớt (cP) ở 25°C	Nồng độ molal đồng thẩm áp (mOsmol/kg)
116	10mM natri axetat, độ pH = 4,8	N/A	10,4	72
116	10mM natri axetat, độ pH = 4,8	50mM methionin + 2% rượu benzylic	7	329
116	10mM natri axetat, độ pH = 4,8	150mm arginin	3,7	241
116	10mM natri axetat, độ pH = 4,8	2% prolin + 1% rượu benzylic	7	313
116	10mM natri axetat, độ pH = 4,8	1,5% prolin + 1% rượu benzylic	7,3	277

Các kết quả cho thấy rằng 21B12 được bào chế bằng 1,5% hoặc 2,0% prolin (khoảng từ 131nM đến 174 mM prolin) và 1% rượu benzylic có tác dụng làm giảm độ nhớt đáng kể trong nồng độ cao của PCSK9 ABP, 21B12.

Để đánh giá triếp các tác dụng của các chế phẩm khác nhau đối với PCSK9 ABP đặc hiệu, các dược phẩm chứa 21B12 được bào chế thành các chế phẩm khác nhau thể hiện trong Bảng 17 dưới đây.

BẢNG 17

Dung dịch đệm chứa tá dược cuối cùng	Nồng độ Ave A280 21B12 cuối cùng (mg/ml)	Độ nhớt (cP) ở 25C	Ứng xuất cắt (Pa) ở 25C	Tốc độ cắt (1/giây) ở 25C
#1 10mM natri axetat, 9% sucroza, độ pH = 5,2	79	3,43	18,50	540
	96	4,97	18,60	375
	110	7,68	18,44	240
	166	223,19	18,40	8,25
#2 10mM natri axetat, 125mM arginin, 3% sucroza, độ pH = 5,0	89	4,80	18,00	375
	105	5,97	18,30	307,5
	122	9,10	18,40	202,5
	150	19,31	18,80	97,5
	167	40,10	18,10	45
	195	193,80	18,90	9,75

#3 10mM natri axetat, 100mM methionin, 4% sucroza, độ pH = 5,0	85	3,20	18,00	562,5
	106	4,89	18,30	375
	122	7,85	18,90	240
	139	13,55	18,30	135
	168	121,22	18,20	15
	193	309,56	18,60	6
#4 10mM natri axetat, 250mM prolin độ pH = 5,0	85	3,20	18,00	562,5
	108	4,57	18,85	412,5
	125	7,61	18,27	240
	139	13,54	18,30	135
	180	133,73	19,00	14,3
	203	323,35	19,40	6

Các kết quả thể hiện khả năng đạt được nồng độ cao của 21B12 protein có độ nhớt giảm với các chế phẩm có các chất làm ổn định/các tá dược đặc hiệu (xem Fig. 28A đến 28D). Cụ thể là, Fig. 28A là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH = 5,2 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28B là đồ thị thể hiện độ nhớt của nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH = 5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat, 125mM arginin, và 3% sucroza, độ pH=5,0 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28C là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH = 5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat, 100mM methionin, và 4% sucroza, độ pH = 5,0 ở 25°C và 40°C.

Fig. 28D là đồ thị thể hiện độ nhớt ở nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9, 21B12, trong chế phẩm chứa 10mM natri axetat, và 9% sucroza, độ pH = 5,2 ở 25°C và 40°C, so với chế phẩm chứa 10mM natri axetat và 250mM prolin, độ pH = 5,0 ở 25°C và 40°C.

VÍ DỤ 30

Các nghiên cứu về độ nhớt 11F1 nồng độ cao

Bảng 30 thể hiện độ nhớt của kháng thể 11F1 ở 25 độ bách phân ở các nồng độ kháng thể khác nhau trong các chế phẩm khác nhau.

Nồng độ dung dịch gốc cao chứa 11F1 được điều chế tương tự như được mô tả trong 21B12 trong Ví dụ 29 trên đây. Sau đó, việc xác định nồng độ được thực hiện bằng cách đo độ hấp thụ ở A280 bằng cách sử dụng quang phổ kế Agilent 8453 (Santa Clara, California). Nồng độ protein được tính bằng cách sử dụng hệ số tắt thích hợp. Lượng thích hợp của dung dịch đệm sau đó được bổ sung vào mẫu để pha loãng mẫu đến nồng độ mong muốn và A280 khác được thực hiện để thu được nồng độ cuối cùng đối với thử nghiệm. Các tá dược được bổ sung một cách riêng rẽ vào các mẫu chế phẩm 11F1 thu được từ dung dịch gốc có nồng độ cao.

Độ nhớt được đo bằng cách sử dụng máy đo độ nhớt hình nón và phẳng Brookfield LV-DVII (Middleboro, Massachusetts) với trục quay CPE-40 với nhiệt độ cốc mẫu phù hợp được điều chỉnh bằng cách tuần hoàn bể nước ở nhiệt độ không đổi 25°C. 500µL mẫu được bổ sung vào cốc mẫu bằng pipet piston (posive displacement pipettor). Sau khi cốc mẫu được giữ chặt, tốc độ quay của trục quay được tăng từ từ cho đến khi đạt được mô men quay khoảng 80%. Ở thời điểm này, tốc độ quay được cho ngừng và việc đọc độ nhớt được tạo ra bằng phần mềm Rheocalc.

Các chế phẩm chứa protein nồng độ cao đôi khi đo được bằng cách sử dụng loại máy đo độ nhớt khác nhau, Anton Paar Physica Model MCR300 với trục quay CP50-1. 600uL mẫu được dùng trong dụng cụ này và phần mềm Rheoplus phiên bản 3.4 được sử dụng để tính độ nhớt của dung dịch. Không có sự khác nhau lớn trong việc đo bằng cách sử dụng máy đo độ nhớt.

BẢNG 30

Dung dịch đệm chứa tá dược cuối cùng	Nồng độ Ave A280 11F1 cuối cùng (mg/ml)	Độ nhớt (cP) ở 25°C
10mM natri axetat, 9% Sucroza 0,01% Poly Sorbat ("PS") 20, độ pH = 5,2	133	8
	145	14
	172	23
	186	45
	191	53
	224	133
10mM natri axetat, 150mM methionin, 3% Sucroza, 0,01% PS 20, độ pH = 5,2	147	13
	162	18
	192	31

	212	54
10mM natri axetat, 250mM prolin, 0,01% PS 20, độ pH = 5,0	139	10
	170	18
	196	36
	212	47
10mM natri axetat, 9% Sucroza, 100mm Arginin, độ pH = 5,2	211	26
10mM natri axetat, 9% Sucroza, 150mM natri clorua, độ pH = 5,2	211	62
10mM natri axetat, 9% Sucroza, 150mm Glyxin, độ pH = 5,2	211	45
10mM natri axetat, 9% Sucroza, 150mm Serin, độ pH = 5,2	211	48
10mM natri axetat, 9% Sucroza, 150mm Alanin, độ pH = 5,2	211	43
10mM natri axetat, 9% Sucroza, độ pH = 5,2	211	73
10mM natri axetat, độ pH = 5,2	211	58

Các kết quả thể hiện trong bảng 30 chứng minh khả năng thu được nồng độ cao của kháng thể 11F1 với độ nhớt tương đối thấp trong các chế phẩm có các chất làm ổn định/các tá dược đặc hiệu. Các chế phẩm chứa các chất làm ổn định methionin, prolin, arginin, glyxin, serin và alanin thể hiện độ nhớt thấp một cách đặc biệt.

VÍ DỤ 31

Nghiên cứu độ ổn định của chế phẩm PCSK9 ABP nồng độ cao

Để đánh giá các tác dụng của độ ổn định đối với các chế phẩm PCSK9 ABP có nồng độ protein cao, các dược phẩm chứa 21B12 được bào chế thành các chế phẩm khác nhau được thể hiện trong bảng 31.1 dưới đây. Các chế phẩm được ủ trong vật chứa được chỉ định ở -30°C hoặc 4°C trong 0 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, và 6 tháng, và 1 năm. Đối với từng chế phẩm ở mỗi thời điểm, mẫu được

loại bỏ ra khỏi mỗi gói để kiểm tra kháng thể monome bằng sắc ký lỏng cao áp loại trừ kích cỡ gốc (Size Exclusion HPLC - SEC-HPLC) và Subvisible Particle Detection by Light Obscuration (HIAC).

Bảng 31.1

Các chế phẩm	Nồng độ 21B12 (mg/ml)	Thể tích làm đầy (mL)	Đóng gói	Dung dịch chất đệm	Các tá dược	Polysorbate 80	Độ pH đích
1	110	3,0	Lọ nhỏ 5cc	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
2	120	3,0	Lọ nhỏ 5cc	10mm Na axetat	100mM methionin, 4% Sucroza	0,010%	5,0
3	120	3,0	Lọ nhỏ 5cc	10mm Na axetat	250mM prolin	0,010%	5,0
4	110	1,0	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
5	120	1,0	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	100mM methionin, 4% Sucroza	0,010%	5,0
6	120	1,0	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	250mM prolin	0,010%	5,0
7	110	1,2	Ống tiêm chất dẻo CZ	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
8	120	1,2	Ống tiêm chất dẻo CZ	10mm Na axetat	100mM methionin, 4% Sucroza	0,010%	5,0
9	120	1,2	Ống tiêm chất dẻo CZ	10mm Na axetat	250mM prolin	0,010%	5,0

SEC-HPLC:

SEC-HPLC chia tách các protein trên cơ sở các khác biệt về thể tích động học của chúng. Các phân tử có thể tích protein động học lớn hơn tách rửa sớm hơn so với các phân tử có thể tích nhỏ hơn. SEC-HPLC gốc được thực hiện bằng cách sử dụng cột TSK-GEL G3000SWXL 7,8 mm x 300mm (Tosoh Bioscience), với cỡ hạt 5µm, trên sắc ký lỏng cao áp Agilent (Agilent HPLC) với bộ dò biến đổi bước sóng (Variable Wavelength Detector). Pha động là 100mM natri Phosphat, 250mM natri clorua, độ pH = 6,8 ± 0,1. Lưu tốc là 0,5ml/phút. Tách rửa cột được kiểm tra ở 280nm. Diện tích pic đã được tích hợp trong sắc phổ này được dùng để định lượng lượng monome và các loại có phân tử lượng cao.

Bảng 31.2

%HMW ở -30°C					%HMW ở 4°C					
Các chế phẩm	T=0 tuần	T=1 tháng	T=6 tháng	T=1 năm	T=0	T=1 tháng	T=2 tháng	T=3 tháng	T=6 tháng	T=1 năm
1	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,01	0,03	0,06	0,07
2	0,06	0,15	0,12	0,15	0,06	0,06	0,03	0,05	0,06	0,06
3	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	0,07
4	0,04	0,05	0,09	0,05	0,04	0,05	0,01	0,04	0,06	0,09
5	0,06	0,20	0,24	0,21	0,06	0,06	0,03	0,05	0,01	0,07
6	0,04	0,04	0,1	0,05	0,04	0,03	0,01	0,03	0,1	0,07
7	0,04	0,04	0,09	0,06	0,04	0,05	0,01	0,03	0,07	0,09
8	0,06	0,18	0,19	0,17	0,06	0,06	0,03	0,05	0,1	0,06
9	0,04	0,04	0,02	0,05	0,04	0,04	0,01	0,03	0,06	0,08

Bảng 31.2 thể hiện kết quả của phân tích SEC-HPLC của chế phẩm 21B12 được liệt kê trong Bảng 31.1 được ủ ở X°C trong 0 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, và 6 tháng. "% HMW" phản ánh lượng phân tử lượng cao 21B12 monome trong

mẫu. Kết quả này cho biết rằng không có chế phẩm nào được quan sát sau 6 tháng; tuy nhiên một số loại có phân tử lượng cao làm gia tăng trong chế phẩm methionin (tức là các chế phẩm 2, 5 và 8).

Dò phần tử có thể nhìn thấy bằng sự làm mờ ánh sáng (HIAC):

Hệ đếm phần tử điện tử, dạng lỏng (HIAC/Royco 9703 hoặc tương đương) chứa bộ cảm biến làm mờ ánh sáng (HIAC/Royco HRLD-150 hoặc tương đương) với mẫu chất lỏng định lượng số lượng của các phần tử và kích thước của chúng nằm trong mẫu thử nghiệm đã nêu. Khi các phần tử trong chất lỏng chuyển qua giữa nguồn ánh sáng và bộ dò, chúng làm giảm hoặc "làm mờ" chùm ánh sáng mà nằm trên bộ dò. Khi nồng độ của các phần tử nằm trong khoảng thông thường của bộ dò, thì các phần tử này được phát hiện lần lượt. Việc chuyển qua của mỗi phần tử thông qua vùng dò làm giảm ánh sáng tới có trên bộ dò sáng và đầu ra điện áp của bộ dò sáng được làm giảm ngay tức thì. Các thay đổi về điện áp như xung điện mà được chuyển đổi bằng dụng cụ thành số lượng của các phần tử có mặt. Phương pháp này là không đặc trưng và đo các phần tử bất kể nguồn gốc của chúng. Các phần tử có kích thước mà được theo dõi là 10μm, và 25μm.

Trong ví dụ này, phân tích HIAC được thực hiện bằng cách sử dụng các mẫu mà được lưu trữ ở 4°C. Đặc biệt, các mẫu chế phẩm 21B12 trong bảng 31.1 được làm sạch trong chân không (còn được gọi "khử khí") để loại bỏ bọt khí mà có thể được dò thấy dưới dạng các phần tử trong hệ đếm phần tử. Đối với các mẫu 21B12, phương pháp này là phương pháp làm sạch các mẫu trong chân không ở 75 torr ($9{,}999\times10^3$ Pa) trong từ 1 đến 2 giờ. Việc đếm phần tử được thực hiện trong 2 giờ kết thúc quy trình khử khí.

Fig. 29A và 29B thể hiện kết quả của các thử nghiệm HIAC đối với các chế phẩm được xác định trên đây được ủ trong vật chứa trong 0 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, và 6 tháng. Các phần tử 10μm, và 25μm được đếm. Fig. 29A và 29B thể hiện rằng tất cả các chế phẩm 21B12 là ổn định do đo được với HIAC. Mặc dù các chế phẩm trong ống tiêm thủy tinh, tức là các chế phẩm từ 4 đến 6, thể hiện lượng các phần tử lớn hơn qua nồng độ protein và chế phẩm, lượng phần tử này là nhỏ

hơn các giới hạn USP đối với mỗi cỡ hạt (10µm và 25µm). Các giới hạn USP trong 10µm phần tử là 6000/vật chứa và trong 25µm hạt, 600/vật chứa.

VÍ DỤ 32

Các thử nghiệm ổn định 11F1

Để nghiên cứu chế phẩm nồng độ cao (150mg/ml) chứa 11F1, một vài chế phẩm được điều chế bằng cách sử dụng các tá dược được lựa chọn như được chỉ định trong bảng 32A dưới đây. Các chế phẩm được bảo quản trong vật chứa được chỉ định ở -30 °C hoặc 4°C trong ít nhất sáu tháng.

Bảng 32A: Các chế phẩm được nghiên cứu

Tên chế phẩm	Nồng độ đích (mg/ml)	Vật chứa	Dung dịch chất đệm[a]	Các tá dược đích	Polysorbate 20	Độ pH[c] cuối cùng
1	150	Lọ nhỏ bằng thủy tinh 5cc	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
2	150	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
3	150	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	150mM methionin, 3% Sucroza	0,010%	5,2
4	150	Ống tiêm thủy tinh BD	10mm Na axetat	250mM prolin	0,010%	5,2
5	150	Ống tiêm Chất dẻo CZ	10mm Na axetat	9,0% Sucroza	0,010%	5,2
6	150	Ống tiêm Chất dẻo CZ	10mm Na axetat	150mM methionin, 3% Sucroza	0,010%	5,2
7	150	Ống tiêm Chất dẻo CZ	10mm Na axetat	250mM prolin	0,010%	5,2

% các loại HMW được đánh giá theo sắc ký lỏng cao áp (HPLC) loại trừ kích thước sau khi bảo quản ở -30°C và 4°C ở thời điểm được chỉ định trong bảng 32B dưới đây. Tóm lại, sắc ký lỏng cao áp (HPLC) loại trừ kích thước chia tách các protein trên cơ sở các khác biệt về thể tích động học của chúng. Các phân tử với thể tích protein động học lớn hơn tách rửa sớm hơn so với các phân tử có thể tích nhỏ hơn. SEC-HPLC gốc được thực hiện bằng cách sử dụng cột TSK-GEL G3000SWXL 7,8 mm x 300mm (Tosoh Bioscience), với cỡ hạt 5µm, trên sắc ký lỏng cao áp Agilent (Aglient HPLC) với bộ dò biến đổi bước sóng (Variable Wavelength Detector). Pha động là 100mM natri Phosphat, 250mM natri Clorua, độ pH = 6,8 +/- 0,1. Lưu tốc là 0,5ml/phút. Tách rửa cột được kiểm tra ở 280nm. Diện tích pic đã được tích hợp trong sắc phổ này được dùng để định lượng lượng monome và các loại có phân tử lượng cao.

BẢNG 32 B

%HMW ở -30°C			%HMW ở 4°C			
Các chế phẩm	T=0 tuần	T=4 tháng	T=0 tuần	T=2 tháng	T=4 tháng	T=6 tháng
1	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05
2	0,05	0,05	0,05	0,06	0,04	0,02
3	0,07	0,26	0,07	0,07	0,07	0,06
4	0,06	0,07	0,06	0,07	0,06	0,08
5	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04	0,06
6	0,06	0,32	0,06	0,06	0,06	0,06
7	0,08	0,07	0,08	0,06	0,07	0,08

Bảng 32B thể hiện kết quả của phân tích SEC-HPLC gốc các chế phẩm 11F1 được liệt kê trong bảng 32A được ủ ở 4°C hoặc -30°C trong 0 tuần, 2 tháng, 4 tháng, hoặc 6 tháng. "% HMW" phản ánh lượng phân tử lượng 11F1 cao trong mẫu. Các kết quả này cho biết rằng không có chế phẩm này được quan sát đến 6 tháng, tuy nhiên một số loại phân tử lượng cao không gia tăng trong chế phẩm methionin được lưu trữ ở -30°C (tức là các chế phẩm 3 và 6).

Độ ổn định của chế phẩm 11F1 nồng độ cao được đánh giá bằng cách điều chế các chế phẩm trong vật chứa ban đầu như được chỉ định trong bảng 32C dưới đây:

Bảng 32C

Chế phẩm	Nồng độ 11F1 (mg/ml)	Vật chứa ban đầu	Các tá dược	0,010% Polysorbate	Dung dịch chất đệm	Độ pH cuối cùng
10	150	Lọ nhỏ bằng thủy tinh	9,0% Sucroza	PS 20	10mm Na axetat	5,2
20	150	Lọ nhỏ bằng thủy tinh	9,0% Sucroza	PS 80	10mm Na axetat	5,2
30	180	Ống tiêm thủy tinh BD	150mM methionin, 3% Sucroza	PS 20	10mm Na axetat	5,2
40	180	Ống tiêm thủy tinh BD	150mM MET, 3% Sucroza	PS 80	10mm Na axetat	5,2
50	180	Ống tiêm thủy tinh BD	250mM proline	PS 20	10mm Na axetat	5,2
60	180	Ống tiêm thủy tinh BD	250mM prolin	PS 80	10mm Na axetat	5,2
70	180	Ống tiêm Chất dẻo CZ	150mM methionin, 3% Sucroza	PS 20	10mm Na axetat	5,2
80	180	Ống tiêm Chất dẻo CZ	150mM methionin, 3% Sucroza	PS 80	10mm Na axetat	5,2
90	180	Ống tiêm Chất dẻo CZ	250mM prolin	PS 20	10mm Na axetat	5,2
100	180	Ống tiêm Chất dẻo CZ	250mM prolin	PS 80	10mm Na axetat	5,2

Các chế phẩm được ủ ở 4 độ bách phân trong một năm. Ở thời điểm được chỉ định trong bảng 32D dưới đây, mẫu được loại bỏ ra khỏi mỗi vật chứa và phân tích bằng SEC-HPLC như được bộc lộ trong bảng 32B trên đây.

Bảng 32D
Dạng %HMW loại trừ kích thước sau 1 năm lưu trữ ở 4°C

4°C % HMW								
Các chế phẩm	T=0 tuần	T=2 tuần	T=4 tuần	T=6 tuần	T=6 tháng	T=6,5 tháng	T=1 năm	% thay đổi
10	0,04	0,07	0,08	0,06	0,07	N/A	0,07	0,03
20	0,05	0,07	0,07	0,07	0,06	N/A	0,06	0,01
30	0,08	0,14	N/A	N/A	N/A	N/A	0,05	-0,03
40	0,09	0,15	0	N/A	N/A	N/A	0,06	-0,03
50	0,08	0,15	0	0	N/A	N/A	0,07	-0,01
60	0,07	0,16	0	0	N/A	N/A	0,08	0,01
70	0,08	0,14	0	0	N/A	0,09	0,06	-0,02
80	0,07	0,14	0	0	N/A	N/A	0,07	0,00
90	0,09	0,15	0	0	N/A	0,09	0,05	-0,04
100	0,08	0,15	0	0	N/A	N/A	0,08	0,00

Ở thời điểm được chỉ định trong bảng 32E dưới đây, mẫu được loại bỏ ra khỏi mỗi vật chứa được phân tích bằng sắc ký lỏng cao áp trao đổi cation (CEX-HPLC). Sắc ký lỏng cao áp trao đổi cation chia tách các protein trên cơ sở các khác biệt về điện tích bề mặt của chúng. Ở độ pH đã nêu, các dạng đồng chức năng mang điện tích của 11F1 được tách trên cột trao đổi ion và được tách rửa bằng cách sử dụng gradien của muối. Dung môi rửa giải được theo dõi theo độ hấp thụ tia cực tím. Sự phân bố dạng đồng chức năng mang điện tích được đánh giá bằng cách xác định diện tích pic của mỗi dạng đồng chức năng như phần trăm tổng diện tích pic.

CEX-HPLC gốc được thực hiện bằng cách sử dụng cột Dionx G3000SWXL 4,0mm ID x 250mm (Tosoh Bioscience), với cỡ hạt 10µm, đối với sắc ký lỏng cao áp Agilent (Agilent HPLC) với bộ dò biến đổi bước sóng (Variable Wavelength Detector). Pha động là gradien tuyến tính của 20mm MES, độ pH = 6,0 +/-0,1 và cùng dung dịch đệm với 500mM natri Clorua. Lưu tốc là 0,6ml/phút. Tách rửa cột

được kiểm tra ở 280nm. Diện tích pic đã được tích hợp trong sắc phổ này được dùng để định lượng lượng dạng đồng chức năng mang điện tích khác nhau.

Bảng 32E
% Pic dạng đồng chức năng chính của sắc ký lỏng cao áp (HPLC) trao đổi cation sau 1 năm lưu trữ ở 4°C

% Pic dạng đồng chức năng chính ở 4°C						
Chế phẩm	T=0 tuần	2 tuần	4 tuần	6 tuần	1 năm	% thay đổi
10	76,0	75,9	75,7	75,6	76,2	0,3
20	76,0	76,4	75,7	75,6	76,4	0,5
30	76,0	N/A	N/A	N/A	76,3	0,4
40	75,8	N/A	N/A	N/A	76,0	0,2
50	76,0	N/A	N/A	N/A	76,3	0,4
60	75,8	N/A	N/A	N/A	75,8	0,1
70	75,9	N/A	N/A	N/A	76,2	0,5
80	76,1	N/A	N/A	N/A	76,3	0,3
90	76,0	N/A	N/A	N/A	76,0	0,0
100	75,8	N/A	N/A	N/A	75,9	0,0

Cả hai bảng 32D và 32E đều thể hiện rằng các chế phẩm 11F1 đã được mô tả thể hiện sự gia tăng ít hơn 5% trong %HMW (SEC-HPLC) hoặc ít hơn 3 đến -5% sự thay đổi về pic dạng đồng chức năng chính (sắc ký lỏng cao áp cation – CATION HPLC) đến 1 năm lưu trữ ở 4°C. Trong thực tế, các thay đổi về các thông số là rất thấp mà là dấu hiệu chỉ báo về các chế phẩm ổn định cao.

Bộ dò phần tử có thể nhìn thấy bằng sự làm mờ ánh sáng (HIAC):

Hệ đếm phần tử điện, dạng lỏng (HIAC/Royco 9703 hoặc tương đương) chứa bộ cảm ứng mờ ánh sáng (HIAC/Royco HRLD-150 hoặc tương đương) với mẫu chất lỏng định lượng số lượng của các phần tử và kích thước của chúng nằm trong khoảng mẫu thử nghiệm được nêu. Khi các phần tử trong chất lỏng chuyển qua giữa nguồn sáng và bộ dò, chúng làm giảm hoặc "làm mờ" chùm ánh sáng mà nằm trong bộ dò. Khi nồng độ của các phần tử nằm trong khoảng bình thường của bộ cảm ứng, các phần tử này được phát hiện lần lượt. Việc chuyển qua của mỗi

phần tử thông qua vùng dò làm giảm ánh sáng tới có trên bộ dò sáng và đầu ra điện áp của bộ dò sáng được làm giảm ngay tức thì. Các thay đổi về điện áp như xung điện mà được chuyển đổi bằng dụng cụ thành số lượng của các phần tử có mặt. Phương pháp này là không đặc trưng và đo các phần tử bất kể nguồn gốc của chúng. Các phần tử có kích thước mà được theo dõi là 10μm, và 25μm.

Trong ví dụ này, phân tích HIAC được thực hiện bằng cách sử dụng các mẫu mà được lưu trữ ở 4°C. Đặc biệt, các mẫu chế phẩm 11F1 trong bảng 32a được làm sạch trong chân không (còn được gọi "khử khí") để loại bỏ bọt khí mà có thể được dò thấy dưới dạng các phần tử trong hệ đếm phần tử. Đối với các mẫu 11F1, phương pháp này là phương pháp làm sạch các mẫu trong chân không ở 75 torr ($9,999\times10^3$ Pa) trong từ 1 đến 2 giờ. Việc đếm phần tử được thực hiện trong 2 giờ kết thúc quy trình khử khí.

Fig. 30A và 30B thể hiện kết quả của thử nghiệm HIAC đối với các chế phẩm được xác định trên đây được ủ trong vật chứa trong 0 tuần, và bốn tháng. 10μm và 25μm phần tử được đếm. Fig. 30A và 30B chứng minh rằng tất cả các chế phẩm chứa 11F1 đều là ổn định do đo được bằng HIAC. Lượng phần tử đối với tất cả các chế phẩm nhỏ hơn giới hạn USP đối với mỗi cỡ hạt (10μm và 25μm). Các giới hạn USP đối với các phần tử 10μm là 6000/vật chứa và trong 25μm phần tử, 600/vật chứa.

VÍ DỤ 33

Tính đặc hiệu liên kết 11F1

Các kết quả của thử nghiệm này thể hiện rằng 11F1 liên kết với PCSK9 và không liên kết với PCSK1, PCSK2, PCSK7, hoặc furin, chứng minh tính đặc hiệu của 11F1 đối với PCSK9.

PCSK9 có gắn biotin, được pha loãng trong dung dịch đệm A (25mm Tris, 150mm NaCl, 0,1% BSA, 0,05% tween, độ pH=7,5) được liên kết với đĩa 96 lỗ được phủ neutraviđin ở nồng độ 0,2μg/ml, trong một giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng. Một cách riêng biệt, 0,4μg/ml 11F1 được ủ trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng

với nồng độ khác nhau (nằm trong khoảng từ 0 đến 20µg/ml) PCSK1, PCSK2, PCSK7, PCSK9 hoặc furin (R&D Systems, Minneapolis, MN) (được pha loãng trong dung dịch đệm A w/o tween). Chất ức chế furin, ở 4,5µg/ml, được bao gồm trong tất cả phản ứng chứa furin. Đĩa streptavidin được phủ PCSK9 được rửa bằng dung dịch đệm A và hỗn hợp enzym chuyển hóa kháng thể/enzym chuyển hóa proprotein được bổ sung vào đĩa này và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Sau khi rửa, kháng thể đã được liên kết được phát hiện bằng cách ủ với kháng thể liên hợp với HRP của dê kháng α-Fc của người (160 ng/ml, được pha loãng trong dung dịch đệm A) (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) tiếp theo là cơ chất TMB. Phản ứng được làm dừng bằng dung dịch HCl 1N và đọc độ hấp thụ ở bước sóng 450nm trên quang phổ kế Spectramax Plus 384 (Molecular Devices Inc., Sunnyvale, CA).

Thử nghiệm này được dựa trên khả năng của enzym chuyển hóa proprotein trong dung dịch để kết thúc đối với sự liên kết của 11F1 với đĩa thu giữ PCSK9. Việc ủ trước của 11F1 và PCSK9 trong dung dịch được giảm một cách phụ thuộc liều và mạnh mẽ lượng 11F1 liên kết với đĩa thu giữ PCSK9 được phát hiện do OD450 giảm (Fig. 31). Tất cả các kết quả được biểu hiện như giá trị trung bình OD450 ± độ lệch tiêu chuẩn đối với tiền protein convertaza cô đặc. Việc ủ trước của 11F1 với PCSK1, PCSK2, PCSK7, hoặc furin, trong dung dịch, không tác động ở mức độ đáng kể đến liên kết của 11F1 với đĩa thu giữ PCSK9. Do đó, ở nồng độ protein được nghiên cứu, 11F1 chỉ liên kết với PCSK9 và không liên kết với các thành viên của họ enzym chuyển hóa proprotein khác được thử.

VÍ DỤ 33

Tính hiệu quả của việc ức chế 11F1 của liên kết LDLR:PCSK9

Ví dụ thể hiện rằng nồng độ nanomol của 11F1 có thể ức chế liên kết của cả D374Y và PCSK9 loại dại với LDLR trong các điều kiện của thử nghiệm này.

Tóm lại, rõ ràng, các đĩa 384 lỗ được phủ bằng 2 µg/ml thụ thể kháng thể của dê kháng LDL (R&D Systems, Minneapolis, MN), đã được pha loãng trong PBS, nhờ ủ qua đêm ở 4°C. Các đĩa được rửa kỹ bằng dung dịch đệm A (100mM

natri cacođylat độ pH = 7,5) và sau đó được phong bế bằng dung dịch đệm B (1% sữa khô không chứa chất béo [Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA] trong dung dịch đệm A) trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa, các đĩa được ủ bằng 0,4µg/ml thụ thể LDL (R&D Systems, Minneapolis, MN) được pha loãng trong dung dịch đệm C (dung dịch đệm B có bổ sung 10mm $CaCl_2$) trong 1,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Đồng thời với việc ủ này, 20ng/ml PCSK9 D374Y có gắn biotin hoặc 100ng/ml WT PCSK9 có gắn biotin được ủ bằng nồng độ khác nhau của kháng thể kháng PCSK9 11F1 được pha loãng trong dung dịch đệm A (nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 6,0 ng/ml đến 200 ug/ml đối với thử nghiệm PCSK9 D374Y hoặc 3,1 ng/ml đến 25 ug/ml đối với thử nghiệm WT PCSK9). Rửa các đĩa được phủ LDLR và hỗn hợp PCSK9 có gắn biotin/kháng thể được bổ sung vào. Đĩa LDLR được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Liên kết của PCSK9 có gắn biotin với LDLR được phát hiện nhờ ủ với streptavidin-HRP (500ng/ml trong dung dịch đệm C) tiếp theo là cơ chất TMB. Phản ứng được làm dừng bằng dung dịch HCl 1N và độ hấp thụ được đọc ở bước sóng 450nm trên quang phổ kế SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices Inc., Sunnyvale, CA). Phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 4.01) được sử dụng để tạo biểu đồ log nồng độ kháng thể đối với OD450 để xác định trị số IC50 bằng hồi quy không tuyến tính.

11F1 ức chế liên kết LDLR:PCSK9. Trị số IC50 đối với 11F1 trong thử nghiệm PCSK9 D374Y nằm trong khoảng từ 7,3 nM đến 10,1nM với giá trị trung bình (± SD) 9,1nM ± 1,5nm (n=3). Các trị số IC50 đối với 11F1 trong thử nghiệm PCSK9 loại dại nằm trong khoảng từ 4,4 nM đến 8,1nM với giá trị trung bình (± SD) 5,9nM ±1,9 nM (n=3). Cần lưu ý rằng các trị số IC50 là tùy thuộc vào lượng PCSK9 D374Y hoặc WT PCSK9 tái tổ hợp được dùng trong thử nghiệm liên kết. Đường cong đáp ứng liều lượng đại diện đối với các thử nghiệm D374Y và loại dại được thể hiện trên Fig. 32 và Fig. 33, một cách tương ứng.

VÍ DỤ 34

Hiệu quả của 11F1 đối với phong bế sự hấp thụ LDL trong tế bào

11F1 phong bế sự tương tác giữa PCSK9 và LDLR *in vitro* và có thể ngăn ngừa sự giảm qua trung gian PCSK9 sự hấp thụ LDL trong các tế bào HepG2.

Tóm lại, tế bào HepG2 của người được gieo giống trong đĩa 96 lỗ đáy trong, đen (Fisher Scientific CO LLC, Santa Clara, CA) ở mật độ $5x10^4$ tế bào cho mỗi lỗ trong DMEM (Mediatech Inc., Herndon, VA) có bổ sung 10% FBS và 1% dung dịch thuốc kháng sinh-kháng nấm (Mediatech Inc., Herndon, VA). Các tế bào được ủ ở 37°C (5% CO_2) qua đêm. Để tạo ra phức giữa PCSK9 D374Y và kháng thể hoặc WT PCSK9 và kháng thể, dãy pha loãng (theo tỷ lệ 1:2) 11F1, từ 666,7nM đến 0,7nM (để phong bế PCSK9 D374Y) hoặc từ 3,3µm đến 3,3nM (để phong bế WT PCSK9), được điều chế trong dung dịch đệm chứa chế phẩm (25mm HEPES, độ pH=7,5, 0,15 M NaCL). PCSK9 D374Y (2µg/ml) hoặc WT PCSK9 (25µg/ml) được pha loãng trong dung dịch đệm hấp thụ (DMEM chứa 1% FBS) và ủ với nồng độ khác nhau của 11F1 hoặc dung dịch đệm hấp thụ đơn lẻ (đối chứng âm) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lắc. BODIPY-LDL (do Invitrogen, Carlsbad, CA cung cấp) được pha loãng trong dung dịch đệm hấp thụ đến nồng độ 12µg/ml. Tiếp theo ủ qua đêm, rửa tế bào HepG2 hai lần bằng DPBS (Mediatech Inc., Herndon, VA). Hai mươi lăm microlit phức hợp PCSK9 D374Y hoặc WT PCSK9 với 11F1 và 25µL BODIPY-LDL được pha loãng (do Invitrogen, Carlsbad, CA cung cấp) được bổ sung vào các tế bào và ủ ở 37°C (5% CO_2) trong 3 giờ. Các tế bào được rửa bằng DPBS 5 lần và được tạo huyền phù lại trong 100µL DPBS. Phát hiện các tín hiệu huỳnh quang bằng cách sử dụng đầu đọc đĩa Safire (Tecan Systems Inc., San Jose, CA) ở bước sóng từ 480 đến 520nm (bước sóng kích thích) và từ 520 đến 600nm (bước sóng phát xạ) và được biểu diễn là đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU).

Phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 4.02, GraphPad Software Inc., San Diego, CA) được sử dụng để vẽ đồ thị log của nồng độ kháng thể so với RFU và để xác định các trị số EC50 hồi quy không tuyến tính bằng cách sử dụng chương trình chỉnh đường cong đáp ứng liều sigmoidal (độ dốc biến thiên).

Ví dụ này cho thấy rằng 11F1 phong bế sự giảm sự hấp thụ LDL qua trung gian PCSK9 D374Y hoặc WT PCSK9 trong các tế bào HepG2 theo cách phụ thuộc vào liều lượng. Bổ sung PCSK9 D374Y được tinh chế tái tổ hợp (2µg/ml) hoặc WT PCSK9 (25µg/ml) vào tế bào HepG2 làm giảm sự hấp thụ của BODIPY-LDL

đến khoảng từ 50% đến 60% và khoảng 40% nồng độ đo được trong tế bào được không được xử lý, một cách tương ứng. Sự hấp thụ LDL được khôi phục phụ thuộc liều kháng thể đến hàm lượng được quan sát ở tế bào không được xử lý. Trị số trung bình (± SD) EC50 đối với khả năng của 11F1 để phong bế sự làm giảm hấp thụ LDL qua trung gian PCSK9 D374Y là 35,3 ± 9,1 nM (n = 6, Fig. 34). Trị số EC50 đối với khả năng của 11F1 để phong bế sự giảm hấp thụ LDL qua trung gian WT PCSK9 là 124,2 ± 28,5nm (n = 3, Fig. 35). Cần lưu ý rằng các trị số EC50 này là hàm của lượng PCSK9 D374Y hoặc WT PCSK9 tái tổ hợp được dùng trong thử nghiệm tế bào. Trị số EC50 là thấp hơn đối với PCSK9 D374Y so với WT PCSK9 do PCSK9 D374Y được dùng trong thử nghiệm này bởi vì ái lực liên kết của nó với LDLR mạnh hơn từ 5 đến 30 lần so với ái lực của WT PCSK9 (Cunningham et al, 2007; Fisher et al, 2007; Kwon et al, 2008).

Các trị số EC50 được báo cáo ở đây là đại diện cho trị số trung bình thu được từ 3 đến 6 chia tách các lần đo trong 11F1.

VÍ DỤ 35

Hiệu quả của 11F1 và 8A3 đối với sự phong bế PCSK9 của người qua virut adeno liên hợp ở mẫu chuột

Việc tiêm tĩnh mạch nhanh trong tĩnh mạch đơn lẻ của kháng thể 11F1 hoặc 8A3 kháng PCSK9 dẫn đến làm giảm đáng kể hàm lượng không có HDL-C và TC trong huyết thanh ở chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người theo AAV. Ví dụ này chứng minh hiệu quả của các kháng thể kháng PCSK9 phong bế chức năng của PCSK9 của người in vivo.

Tóm lại, chuột nhắt 120 C57BL/6 biểu hiện PCSK9 của người được tạo ra nhờ sự lây truyền với virut kèm adeno (adeno associated virus - AAV) được tạo ra mã hóa PCSK9 của người, tạo ra hàm lượng tăng cao của lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp tuần hoàn (LDL-C). Phân tích cholesterol trong huyết thanh được thực hiện bằng cách sử dụng Cobas Integra 400 cùng với máy phân tích hóa học (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). Các con vật được chọn cách ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị với hàm lượng không có HDL-C (LDL-C và VLDL-C), HDL-C và

TC tương tự trong huyết thanh. Vào ngày điều trị 0 (T=0), nhóm phụ gồm chuột nhắt được cho chết trợ tử và huyết thanh được thu để thiết lập hàm lượng đường chuẩn trong ngày. Sau đó, chuột nhắt còn lại được cho dùng kháng thể 11F1, 8A3 hoặc kháng thể đối chứng IgG2 kháng hemoxyanin của một loài ốc biển có lớp vỏ hình nón và một lỗ nhỏ ở đỉnh (keyhole limpet) (keyhole limpethemocyanin - KLH) ở 30mg/kg thông qua việc tiêm tĩnh mạch đuôi. Lần tiêm tiếp theo vào các ngày từ 1 đến 5, nhóm phụ của chuột nhắt được cho chết trợ tử và máu nguyên chất được thu từ tĩnh mạch chủ và được để đông tụ trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó ly tâm ở 12.000 vòng/phút bằng máy ly tâm đỉnh cong (bench top centrifuge) trong 10 phút, huyết thanh được thu. Phân tích cholesterol trong huyết thanh được thực hiện bằng cách sử dụng máy phân tích hóa học cùng với Cobas Integra 400.

Nồng độ trong huyết thanh của PCSK9 được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA kẹp (sandwich ELISA assay). Các đĩa 96 lỗ được phủ qua đêm với 2µg/ml kháng thể đơn dòng kháng PCSK9 (31H4) được pha loãng trong 1X PBS. Các đĩa được rửa kỹ bằng 1X PBS/0,05% tween và sau đó được phong bế trong 2 giờ với 3% BSA/1XPBS. Sau khi rửa, các đĩa được ủ trong 2 giờ với huyết thanh đã được pha loãng trong chất pha loãng thử nghiệm chung (Immunochemistry Technologies, Bloomington, MN). PCSK9 tái tổ hợp của người (từ 1ng/ml đến 500 ng/ml) được thử nghiệm đồng thời và được sử dụng để tạo ra đường cong tiêu chuẩn trên mỗi đĩa ELISA. Kháng thể đa dòng của thỏ có gắn biotin kháng PCSK9 (D8773, Amgen Inc, CA) được bổ sung ở 1ug/ml (trong 1% BSA/PBS), tiếp theo là neutraviđin-HRP ở 200ng/ml (trong 1% BSA/PBS). PCSK9 đã liên kết được phát hiện nhờ ủ với cơ chất TMB. Phản ứng được làm dừng bằng bổ sung dung dịch HCl 1N và độ hấp thụ được đo ở 450nm trên quang phổ kế Spectra Max Plus 384 (Molecular Devices Inc, Sunnyvale, CA). Đường cong tiêu chuẩn (đường cong phù hợp logistic 4 thông số) được tạo ra với PCSK9 tái tổ hợp của người được dùng để xác định nồng độ tương đương của PCSK9 trong mẫu huyết thanh.

Nồng độ của kháng thể trong huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng

thử nghiệm ELISA kẹp (sandwich ELISA assay). Kháng thể đa dòng của dê kháng Fc IgG của người và thuốc thử kháng thể đa dòng của dê được đánh dấu HRP kháng Fcγ IgG của người (do Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc, West Grove, PA cung cấp) được sử dụng làm kháng thể thu giữ và dò, một cách tương ứng. Dung dịch cơ chất 3,3',5,5'tetrametylbenzidin (TMB) được phản ứng với peroxit, và với sự có mặt của peroxidaza cải ngựa (horse radish peroxidase - HRP), tạo ra tín hiệu đo màu mà là tỷ lệ với lượng kháng thể kháng PCSK9 tương ứng được liên kết bằng thuốc thử thu giữ. Cường độ màu (mật độ quang học, OD) được đo ở bước sóng từ 450nm đến 650nm bằng cách sử dụng bộ đọc vi đĩa (Spectra Max Plus 384). Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng gói nén dữ liệu Watson phiên bản 7.0.0.01 (Thermo Scientific, Waltham, MA) với hồi quy Logistic (tự đánh giá) của đường cong tiêu chuẩn được tạo ra riêng rẽ. Giới hạn dưới của sự định lượng (LLOQ) đối với thử nghiệm này là 34,4 ng/ml.

Tính toán các thông số dược động học trong chuột nhắt AAV

Phân tích không ngăn (NCA) được thực hiện đối với các nồng độ huyết thanh bằng cách sử dụng thời điểm theo danh nghĩa định trước đối với mỗi đối tượng bằng cách sử dụng WinNonlin Enterprise, phiên bản 5.1.1 (Pharsight, St. Louis, MO). Các điểm dữ liệu để đánh giá hằng số tốc độ loại trừ giới hạn và thời gian bán thải được chọn bằng mắt thường theo profin nồng độ-thời gian. Các thông số NCA được báo cáo bao gồm: thời gian bán thải biểu kiến (t1/2), diện tích dưới đường cong nồng độ trong huyết thanh-thời gian từ thời điểm 0 đến nồng độ cuối cùng đo được (AUC0-t), và hệ số thanh thải trong huyết thanh biểu kiến (CL0-t). AUC0-t được xác định bằng cách sử dụng phương pháp hình thang tuyến tính - log tuyến tính và CL0-t được tính bằng Dose/AUC0-t. Đối với các kháng thể 11F1, 8A3, và 31H4. Sự phân tích dung dịch dạng liều sau nghiên cứu thể hiện liều thực trong 20% của 30mg/kg đích. Tuy nhiên, đối với đối chứng IgG2, phân tích thể hiện liều thực chỉ là 40% đích dự kiến. Do đó, liều được điều chỉnh bằng 12mg/kg được sử dụng cho sự tính toán CL0-t đối với đối chứng IgG2. Các thông số được báo cáo là ba chữ số có nghĩa, ngoại trừ thời gian bán thải mà được báo cáo đến hai chữ số có nghĩa.

Phân tích thống kê

Tất cả các kết quả cholesterol được biểu hiện là giá trị trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình. Tất cả dữ liệu dược động học được biểu hiện giá trị trung bình ± độ lệch tiêu chuẩn. Giá trị p là 0,05, được xác định theo phân tích ANOVA một yếu tố được sử dụng làm ngưỡng để xác định ý nghĩa thống kê giữa con vật được tiêm kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH và con vật được dùng theo liều với kháng thể kháng PCSK9 tại cùng thời điểm.

Tác dụng của kháng thể kháng PCSK9 đối với hàm lượng không có HDL-C, HDL-C, và TC trong huyết thanh

Để thiết lập đường chuẩn, nhóm phụ gồm chuột nhắt biểu hiện PCSK9 của người được cho chết trợ tử trước khi tiêm của các kháng thể và máu được thu. Hàm lượng không có HDL-C, HDL-C và TC trong các con vật này là 33 ± 4, 117 ± 4 và 183 ± 9mg/dL, một cách tương ứng (trung bình ± SEM). Hàm lượng PCSK9 trong các con vật chưa qua thử nghiệm được xác định là 4921 ng/ml ± 2044 ng/ml.

So với chuột nhắt được tiêm kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH (con vật đối chứng), việc tiêm 11F1 làm giảm đáng kể hàm lượng không có HDL-C vào các ngày 1, 2, và 4 sau tiêm (với tối đa 59%), trong khi TC được giảm đáng kể chỉ vào ngày 4 (22%) (Fig. 36, Fig. 37). Không có sự giảm đáng kể hàm lượng HDL-C được quan sát thấy ở thời điểm bất kỳ (Fig. 38).

So với động vật đối chứng, việc tiêm 8A3 tạo ra sự giảm đáng kể hàm lượng HDL-C vào các ngày 1, 2, và 4 sau tiêm (với tối đa 65%), trong khi TC được làm giảm đáng kể vào ngày 2 sau tiêm (với tối đa 24%) (Fig. 36, Fig. 37). Không có sự giảm đáng kể hàm lượng HDL-C được quan sát thấy thấy ở thời điểm bất kỳ (Fig. 38).

Dược động học

Ở liều trong tĩnh mạch bằng 30mg/kg, các phân tử kháng thể 11F1 và 8A3 có tập tính dược động học rất giống nhau (Fig. 39). Đối với hai phân tử này, độ phơi nhiễm AUC0-t, CL0-t được đánh giá và thời gian bán thải biểu kiến là tương đương (Bảng trên Fig. 40). Kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH có độ phơi

nhiễm AUC0-t thấp hơn bất ngờ so với các kháng thể 11F1 và 8A3, nhưng điều này hầu như là do kháng thể được dùng ở liều thấp hơn so với liều được dự định (12mg/kg so với 30mg/kg); phân tích dung dịch dạng liều thể hiện nồng độ kháng thể là 40% đích. CL0-t của kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH là tương tự với CL0-t của các kháng thể 11F1 và 8A3, khi đã được tính bằng cách sử dụng liều được hiệu chỉnh và thời gian bán thải biểu kiến của kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH được ước tính >120 giờ. Các dữ liệu này gợi ý rằng tác dụng của phối tử PCSK9 đối với sự bố trí kháng thể được thông báo ít hơn đối với các kháng thể 11F1 và 8A3 khi được so sánh với các kháng thể khác được dùng theo liều trong mô hình AAV bởi vì các giá trị CL0-t của kháng thể 11F1 và 8A3 là tương tự như kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH.

Tổng kết

Sự biểu hiện của PCSK9 của người bằng AAV ở chuột nhắt (khoảng 5 ug/ml) dẫn đến hàm lượng không có HDL-C trong huyết thanh bằng khoảng 33mg/dL. Sau khi tiêm 30mg/kg kháng thể 11F1, sự giảm đáng kể hàm lượng không có HDL-C trong huyết thanh được quan sát thấy vào các ngày 1, 2 và 4 sau tiêm (với tối đa 59% so với con vật đối chứng). Sự giảm đáng kể hàm lượng TC được quan sát thấy chỉ vào ngày 4. Việc tiêm kháng thể 8A3 dẫn đến sự giảm tương tự của hàm lượng không có HDL-C với tối đa 65% so với con vật đối chứng. Tuy nhiên, việc dùng kháng thể 8A3 dẫn đến hàm lượng TC giảm đáng kể chỉ vào ngày 2, sau tiêm, với tối đa là 24%. Không có sự giảm đáng kể hàm lượng HDL-C được quan sát thấy ở động vật được cho dùng kháng thể 11F1 hoặc 8A3. Phân tích hàm lượng kháng thể 11F1 và 8A3 trong huyết thanh chứng minh profin tương tự với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH.

VÍ DỤ 36

Tác dụng của một liều dưới da của các kháng thể 11F1, 21B12 và 8A3 đối với lipit trong huyết thanh ở các con khỉ đuôi dài (Cynomolgus)

Việc dùng đơn lẻ dưới da các kháng thể 11F1, 8A3 hoặc 21B12 cho các con khỉ đuôi dài (Cynomolgus) dẫn đến sự giảm đáng kể hàm lượng LDL-C, và TC trong huyết thanh. Thử nghiệm này chứng minh khả năng của kháng thể kháng

PCSK9 làm giảm hàm lượng cholesterol trong huyết thanh ở động vật linh trưởng không phải người.

Tóm lại, các con khỉ đuôi dài (Cynomolgus) đực chưa qua thử nghiệm được cho thích nghi với môi trường của chúng trong ít nhất là 2 tuần trước khi thử nghiệm. Động vật được chọn ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị trên cơ sở sự sàng lọc trước hàm lượng TC, HDL-C, LDL-C, và triglyxerit trong huyết thanh của chúng và thể trọng của chúng. Sau 1 tuần, các con vật được cho nhịn đói qua đêm, và được lấy máu từ mạch ngoại vi (tĩnh mạch đầu hoặc dưới da), để đo hàm lượng lipit trong huyết thanh theo đường chuẩn ở thời điểm được xác định là T = 0. Sau đó, động vật được tiêm dưới da với kháng thể đối chứng IgG2, 11F1, 21B12, hoặc 8A3 kháng KLH (tất cả trong 10mm NaOAc, độ pH=5,2, 9% sucroza) ở 0,5mg/kg (tất cả ở 0,4 mL/kg thể trọng). Sau đó, mẫu máu của các con vật nhịn đói sau đó được thu ở các thời điểm xác định trong thời gian 45 ngày.

Thiết kế thử nghiệm

Nhóm số	Số con đực	Đường dùng	Điều trị	Hàm lượng liều (mg/kg)	Nồng độ (mg/ml)	Thể tích (mL/kg)
1	5	Dưới da	Kháng KLH	0,5	1,09	0,4
2	5	Dưới da	21B12	0,5	1,19	0,4
3	5	Dưới da	11F1	0,5	1,11	0,4
4	5	Dưới da	8A3	0,5	1,25	0,4

Ở các thời điểm xác định, máu được thu từ các con vật trong điều kiện nhịn đói qua đêm từ mạch ngoại vi (tĩnh mạch đầu hoặc dưới da). Máu nguyên chất được để đông tụ trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 20 phút, huyết thanh được thu. Phân tích cholesterol trong huyết thanh trực tiếp được thực hiện bằng cách sử dụng máy phân tích Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics Inc, Indianapolis, IN). Hàm lượng apolipoprotein B trong huyết thanh được xác định ở các thời điểm xác định (ngày 0, 3, 6, 15, 24 và 33) bằng Anilytics, MD, theo hệ phương pháp sau đây. 17µL phần phân ước chứa mẫu (không điều chế) được sử dụng cho phân tích bằng máy phân tích Hitachi 717 (Hitachi 717 Analyzer) bằng cách sử dụng đường cong tiêu chuẩn 6 điểm. Nếu giá

trị ban đầu của mẫu là cao hơn đường cong tiêu chuẩn tuyến tính, thì mẫu được pha loãng và được lặp lại với kết quả nhân với yếu tố pha loãng thích hợp. Các chất thử dùng cho thử nghiệm này (APO-B Reagent Kit # 86071, kháng thể Set # 86060, Control Set # 86103) thu được từ DiaSorin (Stillwater, MN).

Nồng độ kháng thể trong huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA) với khoảng thử nghiệm từ 34,4 đến 3000 ng/ml (34,4 ng/ml là giới hạn dưới của việc định lượng [LLOQ]).

Phân tích không ngăn (NCA) được thực hiện đối với nồng độ trong huyết thanh bằng cách sử dụng thời điểm danh nghĩa định trướng đối với mỗi đối tượng bằng cách sử dụng gói nén dữ liệu Watson® LIMS, phiên bản 7.0.0.01 (Thermo Scientific, Waltham, MA). Các điểm dữ liệu để đánh giá hằng số tốc độ loại trừ giới hạn và thời gian bán thải được chọn bằng mắt thường của profin nồng độ-thời gian và sự phù hợp tuyến tính tốt nhất (thông thường từ 360 giờ cho đến khi nồng độ kháng thể giảm xuống dưới giới hạn định lượng thấp hơn). Các thông số NCA được báo cao bao gồm: thời gian bán thải cuối (t1/2,z), nồng độ trong huyết thanh tối đa (Cmax), diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian của huyết thanh từ thời điểm 0 đến vô cực (AUC0-inf), và hệ số thanh thải huyết thanh biểu kiến (CL/F). AUC0-inf được tính bằng cách sử dụng phương pháp hình thang tuyến tính - log tuyến tính. Tất cả các thông số được báo cáo là ba chữ số có nghĩa, ngoại trừ thời gian bán thải mà được báo cáo đến hai chữ số có nghĩa.

Phân tích thống kê

Mô hình thống kê mà xét đến đường chuẩn là nhóm đồng biến đổi và nhóm điều trị do tác dụng được cố định được làm phù hợp với đáp ứng biến đổi log ở mỗi thời điểm đối với LDL-C, HDL-C, TC, và triglyxerit. Sự hiệu chỉnh đa so sánh của Tukey được áp dụng để điều chỉnh các so sánh theo cặp ở mỗi thời điểm. Sự có ý nghĩa thống kê được đánh giá ở alpha=0,05 bằng cách sử dụng giá trị p được điều chỉnh.

Tác dụng của các kháng thể 11F1, 21B12, và 8A3 đối với Cholesterol LDL trong huyết thanh

Sự giảm LDL-C tối đa đối với 11F1 được quan sát thấy 9 ngày sau khi tiêm, với sự giảm LDL-C 57% so với khỉ được điều trị bằng kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH (con vật đối chứng). LDL-C được đưa trở lại hàm lượng tương tự với hàm lượng quan sát được ở con vật đối chứng vào ngày 27. Sự giảm LDL-C tối đa đối với 21B12 được quan sát thấy 3 ngày sau khi tiêm, với sự giảm LDL-C 64% so với con vật đối chứng. LDL-C được đưa trở lại nồng độ tương tự với con vật đối chứng vào ngày 6. Sự giảm LDL-C tối đa đối với 8A3 được quan sát thấy 4 ngày sau khi tiêm, với sự giảm LDL-C 54% so với con vật đối chứng. LDL-C được đưa trở lại hàm lượng tương tự với hàm lượng quan sát được ở con vật đối chứng vào ngày 27 (Fig. 41).

Tác dụng của các kháng thể 11F1, 21B12, và 8A3 đối với cholesterol tổng trong huyết thanh

Sự giảm TC tối đa đối với 11F1 được quan sát thấy 9 ngày sau khi tiêm, với sự giảm TC 27% so với khỉ được điều trị bằng kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH (con vật đối chứng). TC được đưa trở lại hàm lượng tương tự hàm lượng quan sát được ở con vật đối chứng vào ngày 27. Sự giảm TC tối đa trong 21B12 được quan sát thấy 3 ngày sau khi tiêm, với sự giảm TC 20% so với con vật đối chứng. TC được đưa trở lại tạm thời đến hàm lượng tương tự hàm lượng quan sát được ở khỉ được điều trị bằng chất dẫn vào ngày 4, nhưng là thấp hơn đáng kể giữa các ngày 14 và 18, bao gồm cả ngày 14 và 18. Sự giảm TC tối đa đối với 8A3 được quan sát thấy 9 ngày sau khi tiêm, với sự giảm TC 22% so với con vật đối chứng. TC được đưa trở lại hàm lượng tương tự hàm lượng quan sát được ở con vật đối chứng vào ngày 30 (Fig. 42).

Tác dụng của các kháng thể 11F1, 21B12, và 8A3 đối với cholesterol HDL trong huyết thanh và Triglyxerit

Đối với giá trị trung bình và ở mỗi thời điểm, hàm lượng HDL-C hoặc triglyxerit đối với con vật được điều trị bằng các kháng thể 11F1 hoặc 8A3 là không khác đáng kể (trên cơ sở hàm lượng có ý nghĩa alpha = 0,05) với các hàm lượng quan sát được ở khỉ được điều trị bằng kháng thể đối chứng IgG2 kháng

KLH. Tuy nhiên, 21B12 gây ra sự thay đổi đáng kể về mặt thống kê với HDL-C ở thời điểm đơn lẻ (ngày 18 sau tiêm) (Fig. 43 và Fig. 45).

Tác dụng của các kháng thể 11F1, 21B12, và 8A3 đối với Apolipoprotein B (ApoB)

Hàm lượng ApoB trong huyết thanh được đo vào các ngày 3, 6, 15, 24 và 33, sau tiêm. 11F1 và 8A3 liên quan đến sự giảm ApoB vào các ngày từ 3 đến 24, so với khỉ được điều trị bằng kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH (Fig. 46). 21B12 có liên quan đến hàm lượng ApoB có ý nghĩa thống kê thấp hơn chỉ vào ngày 3.

Profin dược động học của các kháng thể 11F1, 21B12, và 8A3

Đồ thị tổng kết của profin nồng độ-thời gian trung bình theo điều trị được thể hiện trên Fig.48. Các thông số dược động học trung bình được đánh giá đối với các con vật tiếp nhận các kháng thể 11F1, 21B12, 8A3, và kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH được thể hiện trong bảng trên Fig. 47.

Sự hấp thụ của kháng thể trong tất cả các nhóm là đồng nhất và đặc trưng cho việc dùng kháng thể dưới da. Tập tính dược động học của 21B12 liên quan đến CL/F, Cmax, và AUC0-inf là phù hợp với tập tính quan sát được trong các nghiên cứu trước đây, trong đó 21B12 được dùng ở cùng liều. Dược động học của các kháng thể 11F1 và 8A3 khác nhau đáng kể so với 21B12, khi CL/F giảm được quan sát thấy (khoảng 15% CL/F của 21B12) và thời gian bán thải dài hơn được đánh giá (khoảng 200 giờ so với 40 giờ đối với 21B12).

Đặc biệt là, dược động học của kháng thể 11F1 và 8A3 có thể phân biệt với nhau và kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH. Các dữ liệu này ám chỉ rằng sự bố trí của 11F1 và 8A3 bị tác động đến mức độ ít hơn nhiều nhờ sự kết hợp với đích PCSK9 so với 21B12, dựa vào các kháng thể 11F1 và 8A3 có cùng profin phơi nhiễm như kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH khi không có ái lực đối với PCSK9.

Tổng kết kết quả

Trong khoảng thời gian nghiên cứu 45 ngày, sự giảm có ý nghĩa thống kê của TC và LDL-C được quan sát thấy ở các con vật được cho dùng các kháng thể

11F1, 21B12, hoặc 8A3 so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH. 11F1 có liên quan đến sự giảm LDL-C có ý nghĩa thống kê (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH) trong khoảng từ ngày 2 đến ngày 24, bao gồm cả ngày 2 và ngày 24. 21B12 chứng minh sự giảm LDL-C có ý nghĩa thống kê (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH) trong khoảng từ ngày 1 đến ngày 4, bao gồm cả ngày 1 và ngày 4. 8A3 chứng minh sự giảm LDL-C có ý nghĩa thống kê (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH) trong khoảng từ ngày 1 đến ngày 24, bao gồm cả ngày 1 và ngày 24. Các thay đổi về TC và ApoB phản ánh các thay đổi quan sát được ở LDL-C đối với tất cả các nhóm. 11F1 đạt được sự giảm LDL-C tối đa (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH tại cùng thời điểm) 9 ngày sau tiêm (-57%). 21B12 đạt được sự giảm LDL-C tối đa (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH tại cùng thời điểm) 3 ngày sau tiêm (-64%). 8A3 đạt được sự giảm LDL-C tối đa (so với kháng thể đối chứng IgG2 kháng KLH tại cùng thời điểm) 4 ngày sau tiêm (-54%). 21B12 đạt được sự giảm HDL-C ở thời điểm đơn lẻ, 18 ngày sau khi tiêm. Không có thay đổi có ý nghĩa thống kê quan sát được ở nồng độ HDL-C sau khi dùng 11F1 hoặc 8A3. Không có thay đổi có ý nghĩa thống kê quan sát được ở nồng độ triglyxerit sau khi dùng các kháng thể 11F1, 21B12, hoặc 8A3.

VÍ DỤ 37

Nghiên cứu hai phần để đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp và tính hiệu quả của kháng thể kháng PCSK9 của người đối với LDL-C ở đối tượng mắc chứng cholesterol huyết cao di truyền đồng hợp tử

Thiết kế nghiên cứu: Đây là nghiên cứu 2 phần. Phần A là nghiên cứu đánh dấu mở, nhánh đơn lẻ, thử nghiệm đa trung tâm. Phần B là nghiên cứu mù kép, ngẫu nhiên, có kiểm soát giả dược, đa trung tâm của kháng thể người, 21B12, với sự kết nạp mở rộng nhưng thiết kế giống với phần A. Cả hai tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ và lịch trình đánh giá sẽ là tương tự đối với các phần A và B.

Tiêu chuẩn thu nhận bao gồm:

- Nam giới và nữ giới, độ tuổi ≥ 12 đến ≤ 65 tuổi
- Chẩn đoán chứng tăng cholesterol huyết di truyền đồng hợp tử
- Điều trị làm giảm lipit ổn định trong ít nhất 4 tuần

- Cholesterol LDL >130mg/dl (3,4mmol/l)
- Triglyxerit < 400mg/dL (4,5mmol/l)
- Thể trọng > 40 kg hoặc lớn hơn khi sàng lọc.

Tiêu chuẩn loại trừ bao gồm:

- Gạn tách LDL hoặc huyết tương trong 8 tuần trước khi chọn ngẫu nhiên
- Hiệp hội bệnh suy tim New York (New york heart failure association - NYHA) nhóm III hoặc IV hoặc phân suất tống máu tâm thất trái đã được biết đến < 30%
- Chứng nhồi máu cơ tim, đau thắt không ổn định, sự can thiệp động mạch vành dưới da (PCI), ghép qua động mạch vành (CABG) hoặc đột quỵ trong 3 tháng chọn ngẫu nhiên
- Phẫu thuật tiêm hoặc phân bố lại mạch có kế hoạch
- Chứng loạn nhịp không được kiểm soát
- Chúng cao huyết áp không được kiểm soát

Lịch trình đánh giá gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thu gom dữ liệu biến cố bất lợi (AE) và biến cố bất lợi đáng kể (SAE), tín hiệu sống, dùng thuốc đồng thời, thử nghiệm trong phòng thí nghiệm, v.v.

Đối lượng là người đáp ứng các tiêu chuẩn thu nhận/loại trừ sẽ được hướng dẫn theo chế độ ăn TLC panen điều trị cho người trưởng thành NCEP (NCEP Adult Treatment Panel TLC) (hoặc có thể so sánh) và là cần thiết để duy trì liệu pháp điều trị làm giảm lipit hiện tại của họ trong khoảng thời gian nghiên cứu.

Chế phẩm 21B12 sẽ được thể hiện dưới dạng chất lỏng được làm đông lạnh vô trùng, sạch, không màu. Mỗi lọ vô trùng được làm đầy với 1-mL thể tích có thể phân phối của 70mg/ml 21B12 được phối trộn với 10mM natri axetat, 9% (trọng lượng/thể tích) sucroza, 0,004% (trọng lượng/thể tích) Polysorbate 20, độ pH = 5,2. Mỗi lọ nhỏ chỉ để sử dụng đơn lẻ. Giả dược sẽ được thể hiện trong vật chứa giống nhau dưới dạng chất lỏng được làm đông lạnh sạch, không màu, vô trùng, không chứa protein và bào chế dưới dạng 10mM natri axetat, 9% (trọng lượng/thể tích) sucroza, 0,004% (trọng lượng/thể tích) Polysorbate 20, độ pH = 5,2.

Trong phần A, khoảng 4-16 đối tượng sẽ được tham gia vào nghiên cứu và tiếp nhận chế phẩm 21B12 nhãn mở (420mg Q4W). Nghiên cứu được quan sát 4 tuần một lần. Các lần quan sát này sẽ bao gồm việc thu thập dữ liệu về các biến cố bất lợi (AE) và biến cố bất lợi đáng kể (SAE), các dấu hiệu sống, thuốc dùng kèm theo, thử nghiệm trong phòng thí nghiệm, v.v. Panen lipit lúc nhịn đói sẽ được thu ở tuần 6 để đánh giá hàm lượng nadir LDL-C đáp ứng với việc điều trị bằng chế phẩm 21B12. Chế phẩm 21B12 sẽ được dùng vào ngày 1, tuần 4, và tuần 8. Lần cuối nghiên cứu (EOS) và đánh giá lần cuối về lipit là tại tuần 12.

Khoảng 51 đối tượng mới sẽ được kết nạp vào nghiên cứu trong phần B. Đối tượng đã được kết nạp sẽ được chọn ngẫu nhiên với sự chỉ định theo tỷ lệ 2:1 thành 2 nhóm điều trị: 420mg 21B12 Q4W SC hoặc giả dược Q4W SC. Việc chọn ngẫu nhiên sẽ được phân nhóm theo hàm lượng LDL-C đường chuẩn. Nghiên cứu được quan sát 4 tuần một lần, với hai lần quan sát tùy ý tại tuần 2 và tuần 10. Các lần quan sát này sẽ bao gồm việc thu thập dữ liệu về các biến cố AE và SAE, các dấu hiệu sống, thuốc dùng kèm theo, thử nghiệm trong phòng thí nghiệm, v.v. Panen lipit lúc nhịn đói sẽ được thu ở tuần 6 để đánh giá hàm lượng nadir LDL-C level đáp ứng với việc điều trị bằng 21B12. Chế phẩm 21B12 sẽ được dùng vào ngày 1, tuần 4, và tuần 8. Lần cuối nghiên cứu (EOS) và đánh giá lần cuối về lipit là tại tuần 12 cho tất cả các đối tượng.

Kết hợp bằng cách viện dẫn

Tất cả các tài liệu được viện dẫn trong bản mô tả, bao gồm các patent, các đơn yêu cầu cấp patent, các tài liệu, sách chuyên ngành và tài liệu tương tự, và các tài liệu được trích dẫn trong đó, đến mức chúng chưa được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Trong phạm vi mà các định nghĩa hoặc thuật ngữ bất kỳ được cung cấp trong các tài liệu được đưa vào bằng cách viện dẫn khác với các thuật ngữ và phần thảo luận được đề xuất trong bản mô tả này, thì các thuật ngữ và định nghĩa này sẽ bị hạn chế.

Các tương đương

Phần mô tả trên đây được xem là đủ để cho người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể thực hiện được sáng chế. Phần mô tả và các ví dụ trên

đây đã nêu chi tiết các phương án được ưu tiên nhất định của sáng chế và mô tả cách tốt nhất mà các tác giả sáng chế dự tính. Tuy nhiên, nên được đánh giá rằng, không vấn đề gì cho dù phần mô tả trên đây đã bộc lộ như thế nào, sáng chế có thể được thực hiện theo nhiều cách và sáng chế sẽ được giới hạn theo các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo và các dạng tương đương lượng bất kỳ của chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm dược ổn định chứa ít nhất một kháng thể đơn dòng mà liên kết đặc hiệu với PCSK9, trong đó PCSK9 chứa các axit amin nêu trong SEQ ID NO 1, trong đó chế phẩm này chứa kháng thể đơn dòng với lượng nằm trong khoảng từ 40mg/ml đến 300mg/ml, và dung dịch đệm dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 40mM, và chất hoạt động bề mặt dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% trọng lượng/thể tích đến 20% trọng lượng/thể tích, và ít nhất một chất làm ổn định dược dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 10% trọng lượng/thể tích, trong đó chế phẩm dược ổn định này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,0, trong đó chất làm ổn định dược dụng nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm prolin, arginin, lysin, methionin, taurin và rượu benzylic, và trong đó kháng thể đơn dòng chứa:

a) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23, và

vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49;

b) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ của trình tự CDRL1 nêu trong SEQ ID NO:23, CDRL2 của trình tự CDRL2 nêu trong SEQ ID NO:23, và CDRL3 của trình tự CDRL3 nêu trong SEQ ID NO:23, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng của trình tự CDRH1 nêu trong SEQ ID NO:49, CDRH2 của trình tự CDRH2 nêu trong SEQ ID NO:49, và CDRH3 của trình tự CDRH3 nêu trong SEQ ID NO:49;

c) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 395, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 368, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180;

d) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 305, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:312, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:319, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 308, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:320, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:310; hoặc

e) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23, và

vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49.

2. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 1, trong đó dung dịch đệm dược dụng được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, phosphat, nước muối đệm phosphat, natri axetat, natri xitrat, và dung dịch đệm Tris.

3. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó:

(a) dung dịch đệm dược dụng là natri axetat, và/hoặc

(b) trong đó dung dịch đệm dược dụng có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 10nM đến 20mM.

4. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chất hoạt động bề mặt dược dụng là polysorbate 80 hoặc polysorbate 20, tùy ý trong đó chất hoạt động bề mặt dược dụng này có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% trọng lượng/thể tích đến 0,01% trọng lượng/thể tích.

5. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó chất làm ổn định là prolin.

6. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 5, trong đó prolin có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 2% trọng lượng/thể tích đến 3% trọng lượng/thể tích.

7. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 5,0 đến 5,5.

8. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó chế phẩm dược ổn định này có độ nhớt bằng khoảng 30cP hoặc thấp hơn ở 25°C.

9. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó lượng kháng thể đơn dòng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 150mg/ml và chế phẩm dược ổn định này có độ nhớt bằng khoảng 12cP hoặc thấp hơn ở 25°C.

10. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó chế phẩm này có nồng độ molal đồng thẩm áp nằm trong khoảng từ 250mOsmol/kg đến 350mOsmol/kg.

11. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó chế phẩm dược ổn định này vẫn ổn định trong thời gian ít nhất là 3, 6, 12 hoặc 24 tháng.

12. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa:

(i) kháng thể đơn dòng với lượng nằm trong khoảng từ 70mg/ml đến 250mg/ml;

(ii) natri axetat nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 40mM;

(iii) prolin, arginin, lysin, methionin hoặc taurin với lượng nằm trong khoảng từ 1% trọng lượng/thể tích đến 5% trọng lượng/thể tích và/hoặc rượu benzylic với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 5% trọng lượng/thể tích, và

(iv) chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,004% trọng lượng/thể tích đến 10% trọng lượng/thể tích của chế phẩm, được chọn từ nhóm bao gồm polysorbate-80, polysorbate-60, polysorbate-40, polysorbate-20; trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,0.

13. Chế phẩm dược ổn định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó lượng kháng thể đơn dòng là khoảng 70mg/ml hoặc khoảng 120mg/ml hoặc khoảng 140mg/ml.

14. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa:

(i) kháng thể đơn dòng với lượng bằng khoảng 140mg/ml;

(ii) natri axetat với lượng bằng khoảng 20mM;

(iii) prolin với lượng bằng khoảng 220mM, và

(iv) polysorbate-80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích,

trong đó chế phẩm này có độ pH bằng khoảng 5,0.

15. Chế phẩm dược ổn định theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa:

(i) kháng thể đơn dòng với lượng bằng khoảng120mg/ml;

(ii) natri axetat với lượng bằng khoảng 20mM;

(iii) prolin với lượng bằng khoảng 220mM, và

(iv) polysorbate-80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích,

trong đó chế phẩm này có độ pH bằng khoảng 5,0.

16. Chế phẩm dược ổn định chứa ít nhất một kháng thể đơn dòng mà liên kết đặc hiệu với PCSK9, trong đó PCSK9 chứa các axit amin nêu trong SEQ ID NO 1, trong đó chế phẩm này chứa kháng thể đơn dòng với lượng bằng khoảng 120mg/ml, và natri axetat với lượng bằng khoảng 20mM, và polysorbate-80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích, và prolin với lượng bằng khoảng 220mM, trong đó chế phẩm dược ổn định này có độ pH bằng khoảng 5,0, trong đó kháng thể đơn dòng chứa:

a) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23, và

vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49;

b) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ của trình tự CDRL1 nêu trong SEQ ID NO:23, CDRL2 của trình tự CDRL2 nêu trong SEQ ID NO:23, và CDRL3 của trình tự CDRL3 nêu trong SEQ ID NO:23, và vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng của trình tự CDRH1 nêu trong SEQ ID NO:49, CDRH2 của trình tự CDRH2 nêu trong SEQ ID NO:49, và CDRH3 của trình tự CDRH3 nêu trong SEQ ID NO:49;

c) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 395, và vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 368, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180;

d) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 305, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:312, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:319, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 308, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:320, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:310; hoặc

e) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ IDNO: 23, và

vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49.

17. Chế phẩm dược ổn định chứa ít nhất một kháng thể đơn dòng mà liên kết đặc hiệu với PCSK9, trong đó PCSK9 chứa các axit amin nêu trong SEQ ID NO 1, trong đó chế phẩm này chứa kháng thể đơn dòng với lượng bằng khoảng 140mg/ml, và natri axetat với lượng bằng khoảng 20mM, và polysorbate-80 với lượng bằng khoảng 0,01% trọng lượng/thể tích, và prolin với lượng bằng khoảng 220mM, trong đó chế phẩm dược ổn định này có độ pH bằng khoảng 5,0,

trong đó kháng thể đơn dòng chứa:

a) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 23, và vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin đồng nhất ít nhất là 90% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO:49;

b) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ của trình tự CDRL1 nêu trong SEQ ID NO:23, CDRL2 của trình tự CDRL2 nêu trong SEQ ID NO:23, và CDRL3 của trình tự CDRL3 nêu trong SEQ ID NO:23, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng của trình tự CDRH1 nêu trong SEQ ID NO:49, CDRH2 của trình tự CDRH2 nêu trong SEQ ID NO:49, và CDRH3 của trình tự CDRH3 nêu trong SEQ ID NO:49;

c) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 395, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 368, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180;

d) vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ CDRL1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 305, CDRL2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:312, CDRL3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:319, và

vùng xác định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng CDRH1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 308, CDRH2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:320, CDRH3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:310; hoặc

e) vùng thay đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23, và

vùng thay đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49.

Fig. 1A

SEQ ID NO:1

QEDEDGDYEELVLALRSEEDGLAEAPEHGTTATFHRCAKDPWRLPGTYVVVLKEE
THLSQSERTARRLQAQAARRGYLTKILHVFHGLLPGFLVKMSGDLLELALKLPHV
DYIEEDSSVFAQSIPWNLERITPPRYRADEYQPPDGGSLVEVYLLDTSIQSDHRE
IEGRVMVTDFENVPEEDGTRFHRQASKCDSHGTHLAGVVSGRDAGVAKGASMRSL
RVLNCQGKGTVSGTLIGLEFIRKSQLVQPVGPLVVLLPLAGGYSRVLNAACQRLA
RAGVVLVTAAGNFRDDACLYSPASAPEVITVGATNAQDQPVTLGTLGTNFGRCVD
LFAPGEDIIGASSDCSTCFVSQSGTSQAAAHVAGIAAMMLSAEPELTLAELRQRL
IHFSAKDVINEAWFPEDQRVLTPNLVAALPPSTHGAGWQLFCRTVWSAHSGPTRM
ATAIARCAPDEELLSCSSFSRSGKRRGERMEAQGGKLVCRAHNAFGGEGVYAIAR
CCLLPQANCSVHTAPPAEASMGTRVHCHQQGHVLTGCSSHWEVEDLGTHKPPVLR
PRGQPNQCVGHREASIHASCCHAPGLECKVKEHGIPAPQGQVTVACEEGWTLTGC
SALPGTSHVLGAYAVDNTCVVRSRDVSTTGSTSEEAVTAVAICCRSRHLAQASQE
LQ

Fig.1B-1

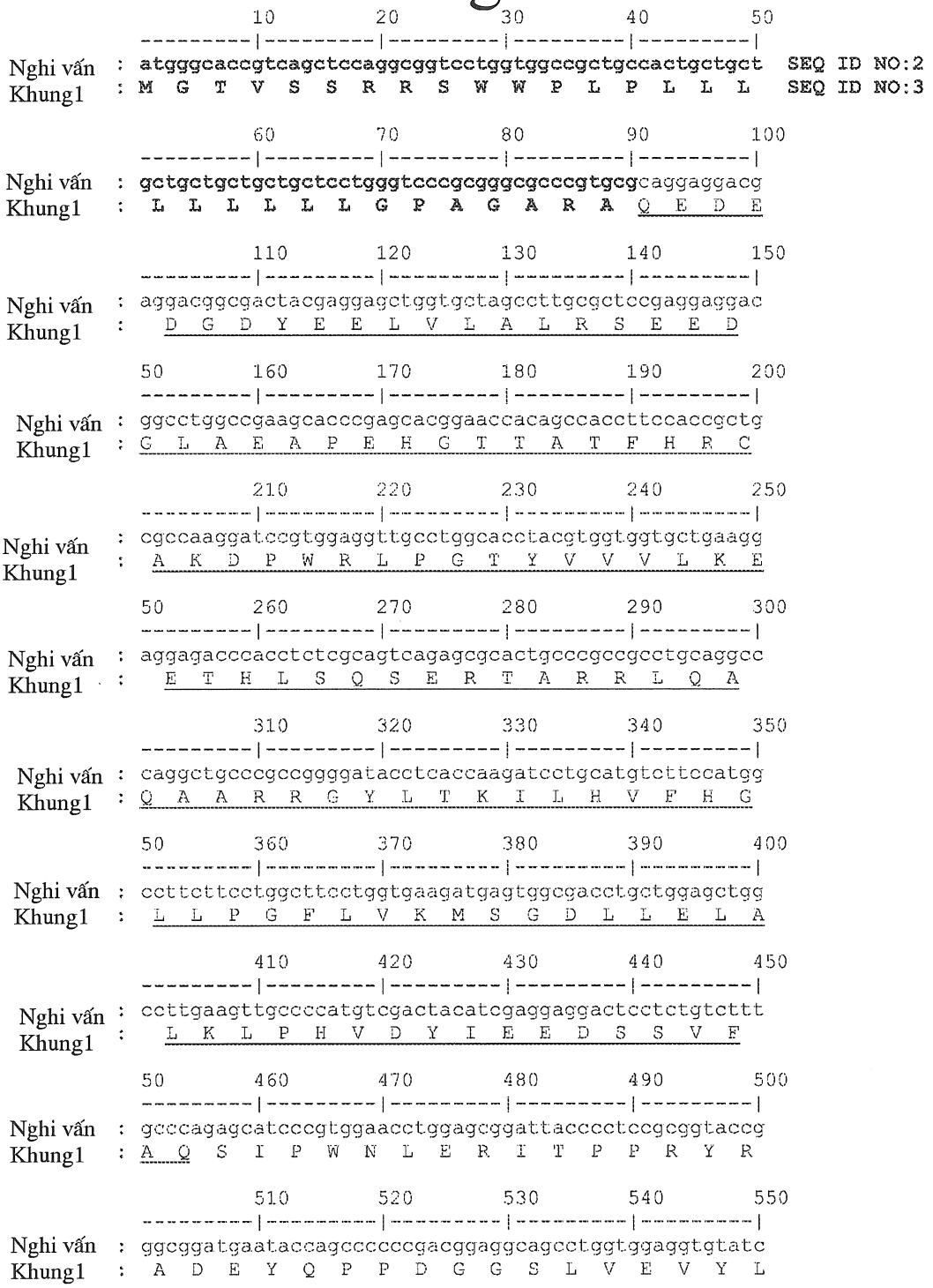

10 20 30 40 50
Nghi vấn : atgggcaccgtcagctccaggcggtcctggtggccgctgccactgctgct SEQ ID NO:2
Khung1 : M G T V S S R R S W W P L P L L L SEQ ID NO:3
60 70 80 90 100
Nghi vấn : gctgctgctgctgctcctgggtcccgcgggcgcccgtgcgcaggaggacg
Khung1 : L L L L L L G P A G A R A Q E D E
110 120 130 140 150
Nghi vấn : aggacggcgactacgaggagctggtgctagccttgcgctccgaggaggac
Khung1 : D G D Y E E L V L A L R S E E D
50 160 170 180 190 200
Nghi vấn : ggcctggccgaagcacccgagcacggaaccacagccaccttccaccgctg
Khung1 : G L A E A P E H G T T A T F H R C
210 220 230 240 250
Nghi vấn : cgccaaggatccgtggaggttgcctggcacctacgtggtggtgctgaagg
Khung1 : A K D P W R L P G T Y V V V L K E
50 260 270 280 290 300
Nghi vấn : aggagacccacctctcgcagtcagagcgcactgcccgccgcctgcaggcc
Khung1 : E T H L S Q S E R T A R R L Q A
310 320 330 340 350
Nghi vấn : caggctgcccgccggggatacctcaccaagatcctgcatgtcttccatgg
Khung1 : Q A A R R G Y L T K I L H V F H G
50 360 370 380 390 400
Nghi vấn : ccttcttcctggcttcctggtgaagatgagtggcgacctgctggagctgg
Khung1 : L L P G F L V K M S G D L L E L A
410 420 430 440 450
Nghi vấn : ccttgaagttgccccatgtcgactacatcgaggaggactcctctgtcttt
Khung1 : L K L P H V D Y I E E D S S V F
50 460 470 480 490 500
Nghi vấn : gcccagagcatcccgtggaacctggagcggattacccctccgcggtaccg
Khung1 : A Q S I P W N L E R I T P P R Y R
510 520 530 540 550
Nghi vấn : ggcggatgaataccagccccccgacggaggcagcctggtggaggtgtatc
Khung1 : A D E Y Q P P D G G S L V E V Y L

Fig. 1B-2

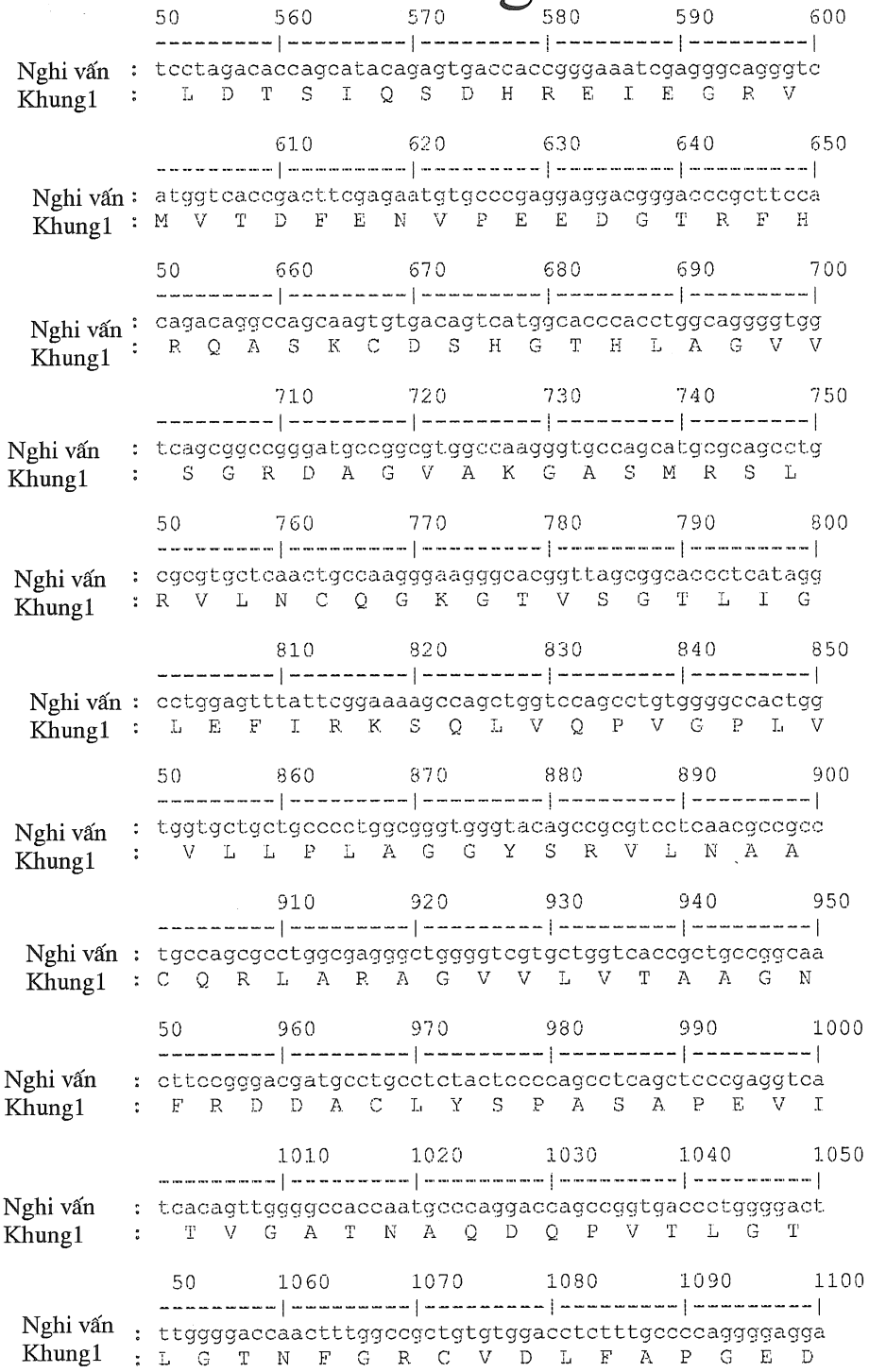

50 560 570 580 590 600
Nghi vấn : tcctagacaccagcatacagagtgaccaccgggaaatcgagggcagggtc
Khung1 : L D T S I Q S D H R E I E G R V
610 620 630 640 650
Nghi vấn : atggtcaccgacttcgagaatgtgcccgaggaggacgggacccgcttcca
Khung1 : M V T D F E N V P E E D G T R F H
50 660 670 680 690 700
Nghi vấn : cagacaggccagcaagtgtgacagtcatggcacccacctggcaggggtgg
Khung1 : R Q A S K C D S H G T H L A G V V
710 720 730 740 750
Nghi vấn : tcagcggccgggatgccggcgtggccaagggtgccagcatgcgcagcctg
Khung1 : S G R D A G V A K G A S M R S L
50 760 770 780 790 800
Nghi vấn : cgcgtgctcaactgccaagggaagggcacggttagcggcaccctcatagg
Khung1 : R V L N C Q G K G T V S G T L I G
810 820 830 840 850
Nghi vấn : cctggagtttattcggaaaagccagctggtccagcctgtggggccactgg
Khung1 : L E F I R K S Q L V Q P V G P L V
50 860 870 880 890 900
Nghi vấn : tggtgctgctgcccctggcgggtgggtacagccgcgtcctcaacgccgcc
Khung1 : V L L P L A G G Y S R V L N A A
910 920 930 940 950
Nghi vấn : tgccagcgcctggcgagggctggggtcgtgctggtcaccgctgccggcaa
Khung1 : C Q R L A R A G V V L V T A A G N
50 960 970 980 990 1000
Nghi vấn : cttccgggacgatgcctgcctctactccccagcctcagctcccgaggtca
Khung1 : F R D D A C L Y S P A S A P E V I
1010 1020 1030 1040 1050
Nghi vấn : tcacagttggggccaccaatgcccaggaccagccggtgaccctggggact
Khung1 : T V G A T N A Q D Q P V T L G T
50 1060 1070 1080 1090 1100
Nghi vấn : ttggggaccaactttggccgctgtgtggacctctttgccccaggggagga
Khung1 : L G T N F G R C V D L F A P G E D

Fig.1B-3

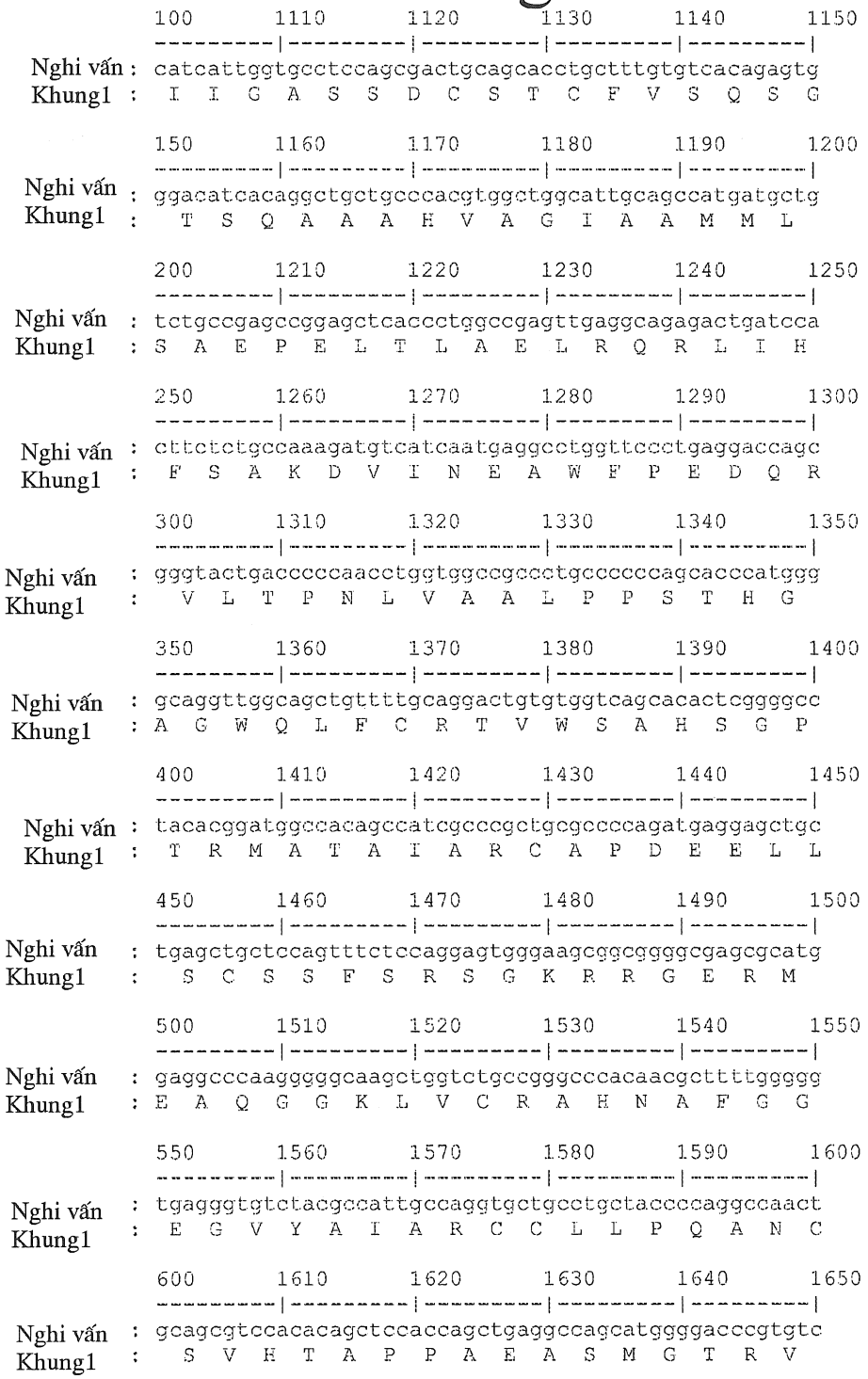

100 1110 1120 1130 1140 1150
Nghi vấn : catcattggtgcctccagcgactgcagcacctgctttgtgtcacagagtg
Khung1 : I I G A S S D C S T C F V S Q S G
150 1160 1170 1180 1190 1200
Nghi vấn : ggacatcacaggctgctgcccacgtggctggcattgcagccatgatgctg
Khung1 : T S Q A A A H V A G I A A M M L
200 1210 1220 1230 1240 1250
Nghi vấn : tctgccgagccggagctcaccctggccgagttgaggcagagactgatcca
Khung1 : S A E P E L T L A E L R Q R L I H
250 1260 1270 1280 1290 1300
Nghi vấn : cttctctgccaaagatgtcatcaatgaggcctggttccctgaggaccagc
Khung1 : F S A K D V I N E A W F P E D Q R
300 1310 1320 1330 1340 1350
Nghi vấn : gggtactgacccccaacctggtggccgccctgccccccagcacccatggg
Khung1 : V L T P N L V A A L P P S T H G
350 1360 1370 1380 1390 1400
Nghi vấn : gcaggttggcagctgttttgcaggactgtgtggtcagcacactcggggcc
Khung1 : A G W Q L F C R T V W S A H S G P
400 1410 1420 1430 1440 1450
Nghi vấn : tacacggatggccacagccatcgcccgctgcgccccagatgaggagctgc
Khung1 : T R M A T A I A R C A P D E E L L
450 1460 1470 1480 1490 1500
Nghi vấn : tgagctgctccagtttctccaggagtgggaagcggcggggcgagcgcatg
Khung1 : S C S S F S R S G K R R G E R M
500 1510 1520 1530 1540 1550
Nghi vấn : gaggcccaaggggcaagctggtctgccgggcccacaacgcttttggggg
Khung1 : E A Q G G K L V C R A H N A F G G
550 1560 1570 1580 1590 1600
Nghi vấn : tgagggtgtctacgccattgccaggtgctgcctgctaccccaggccaact
Khung1 : E G V Y A I A R C C L L P Q A N C
600 1610 1620 1630 1640 1650
Nghi vấn : gcagcgtccacacagctccaccagctgaggccagcatggggacccgtgtc
Khung1 : S V H T A P P A E A S M G T R V

Fig. 1B-4

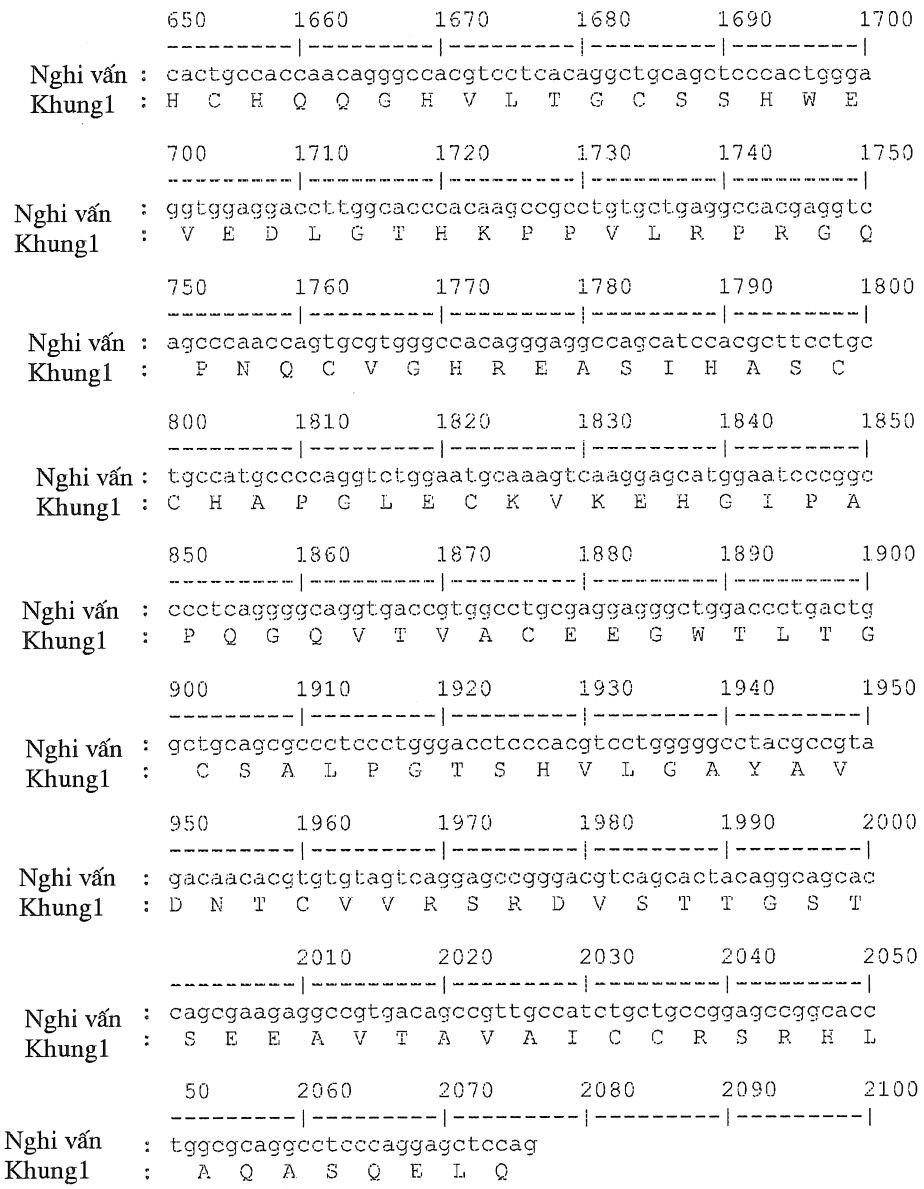

650 1660 1670 1680 1690 1700
Nghi vấn : cactgccaccaacagggccacgtcctcacaggctgcagctcccactggga
Khung1 : H C H Q Q G H V L T G C S S H W E
700 1710 1720 1730 1740 1750
Nghi vấn : ggtggaggaccttggcacccacaagccgcctgtgctgaggccacgaggtc
Khung1 : V E D L G T H K P P V L R P R G Q
750 1760 1770 1780 1790 1800
Nghi vấn : agcccaaccagtgcgtgggccacagggaggccagcatccacgcttcctgc
Khung1 : P N Q C V G H R E A S I H A S C
800 1810 1820 1830 1840 1850
Nghi vấn : tgccatgccccaggtctggaatgcaaagtcaaggagcatggaatcccggc
Khung1 : C H A P G L E C K V K E H G I P A
850 1860 1870 1880 1890 1900
Nghi vấn : ccctcaggggcaggtgaccgtggcctgcgaggagggctggaccctgactg
Khung1 : P Q G Q V T V A C E E G W T L T G
900 1910 1920 1930 1940 1950
Nghi vấn : gctgcagcgccctccctgggacctcccacgtcctgggggcctacgccgta
Khung1 : C S A L P G T S H V L G A Y A V
950 1960 1970 1980 1990 2000
Nghi vấn : gacaacacgtgtgtagtcaggagccgggacgtcagcactacaggcagcac
Khung1 : D N T C V V R S R D V S T T G S T
2010 2020 2030 2040 2050
Nghi vấn : cagcgaagaggccgtgacagccgttgccatctgctgccggagccggcacc
Khung1 : S E E A V T A V A I C C R S R H L
50 2060 2070 2080 2090 2100
Nghi vấn : tggcgcaggcctcccaggagctccag
Khung1 : A Q A S Q E L Q

Fig. 2A

Seq ID No.	DÒNG	V	D	J	FR1	CDR1	FR2
4		Dòng mầm			DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSLLHSNGYNYLD	WYLQKPGQSPQLLIY
5	30A4	A3		JK3	----------S------P----	----------F-N	----------
6		Dòng mầm			DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASQSISSYLN	WYQQKPGKAPKLLIY
7	3C4	O2		JK4	----------	----R--N--S	--L----I-------
8		Dòng mầm			DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASQSISSYLN	WYQQKPGKAPKLLIY
9	23B5	O2		JK5	--L----------	----------	----------V---
10	25G4	O2		JK5	----------	-------I---	----------Y----
11		Dòng mầm			QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISC	TGSSSNIGAGYDVH	WYQQLPGTAPKLLIY
12	31H4	V1-13		JL2	----------	----------	----------S
13	27B2	V1-13		JL2	----------	---------H----	----V----------
14		Dòng mầm			QSALTQPASVSGSPGQSITISC	TGTSSDVGGYNYVS	WYQQHPGKAPKLMIY
15	25A7	V1-4		JL2	----------	--------R--S--	---H--------V---
16	27H5	V1-4		JL2	----------	----------S--	--------P------
17	26H5	V1-4		JL2	----------	----------S--	--------P------
18	31D1	V1-4		JL2	----------	----------S--	--------P------
19	20D10	V1-4		JL2	----------	----------S--	----Y---P---K--
20	27E7	V1-4		JL2	----------	----------S--	--------P------
21	30B9	V1-4		JL2	----------	----------S--	--------P------
22	19H9	V1-4		JL2	----------	---N-------S--	--------P------
23	26E10	V1-4		JL2	----------	----------S--	----------
23	21B12	V1-4		JL2	----------	----------S--	----------
24	17C2	V1-4		JL2	----------	--------A--S--	----------R---

Fig. 2B

Seq ID No.	DÒNG	V	D	J	FR1	CDR1	FR2
25		Dòng mầm			QSALTQPASVSGSPGQSITISC	TGTSSDVGGYNYVS	WYQQHPGKAPKLMIY
26	**23G1**	V1-4		JL3	----------	----------S--	----------
27		Dòng mầm			QSALTQPASVSGSPGQSITISC	TGTSSDVGSYNLVS	WYQQHPGKAPKLMIY
28	**13H1**	V1-7		JL3	L----------	--------N-----	----YS---------
29		Dòng mầm			QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	SGSSSNIGSNTVN	WYQQLPGTAPKLLIY
30	**9C9**	V1-16		JL3	----------	---------K---	----V----------
31	**9H6**	V1-16		JL3	----------P---------	----------	----------
32	**31A4**	V1-16		JL3	----------	----------	----------
33	**1A12**	V1-16		JL3	----------	---------K---	----F----------
34		Dòng mầm			QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC	SGSSSNIGNNYVS	WYQQLPGTAPKLLIY
35	**16F12**	V1-19		JL1	----------	----------F--	----------
36	**22E2**	V1-19		JL1	----------	----------F--	----------
37	**27A6**	V1-19		JL1	----------	----------F--	----F----------
38	**28B12**	V1-19		JL1	----------	----------F--	----------
39	**28D6**	V1-19		JL1	--------T----------	----------F--	----------
40	**31G11**	V1-19		JL1	----------	----------F--	----------
41		Dòng mầm			QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC	SGSSSNIGNNYVS	WYQQLPGTAPKLLIY
42	**13B5**	V1-19		JL2	----------	---N---------	----------
43		Dòng mầm			SYELTQPPSVSVSPGQTASITC	SGDKLGDKYAC	WYQQKPGQSPVLVIY
44	**31B12**	V2-1		JL2	----------R---	----------	----------
45		Dòng mầm			QPVLTQPPSASASLGASVTLTC	TLSSGYSNYKVD	WYQQRPGKGPRFVMR
46	**3B6**	V5-2		JL2	-------LF----------	-------S-E--	----------

Fig. 2C

Seq ID No.	DONG	CDR2	FR3	CDR3	FR4
4		LGSNRAS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	MQALQTPFT	FGPGTKVDIK
5	30A4	---H---	----------E----------	--V------	----------
6		AASSLQS	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	QQSYSTPLT	FGGGTKVEIK
7	3C4	-------	----------S----------	--------I	----------
8		AASSLQS	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	QQSYSTPIT	FGQGTRLEIK
9	23B5	-------	----------N----------	----S----	----------
10	25G4	--A----	----------------------	-----A---	----------
11		GNSNRPS	GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC	QSYDSSLSGSV	FGGGTKLTVL
12	31H4	-------	----------------------	----------	----------
13	27B2	--TY---	----------------------	---N----V-	----------
14		EVSNRPS	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC	SSYTSSSVV	FGGGTKLTVL
15	25A7	-------	---T------------------	---------	----------
286	25A7v1	-------	---T------------------	---------	----------
16	27H5	-------	---I------------------F-	-----T-M-	----------
287	27H5v1	-------	---I------------------F-	----T-M-	----------
17	26H5	-------	---I------------------F-	-----T-M-	----------
18	31D1	-------	---------------------F-	-----T-M-	-------A--
19	20D10	-------	---------------------F-	-----T-M-	----------
20	27E7	-------	---------------------F-	-----T-M-	----------
21	30B9	-------	---------------------F-	-----T-M-	----------
22	19H9	-------	-I-------------------F-	-----T-M-	----------
287	19H9v1	-------	-I-------------------F-	-----T-M-	----------
23	26E10	-------	----------------------	N----T-M-	----------
23	21B12	-------	----------------------	N----T-M-	----------
24	17C2	-------	----------------------	-----TNM-	----------

Fig.2D

Seq ID No.	DÒNG	CDR2	FR3	CDR3	FR4
25		EVSNRPS	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC	SSYTSSS V	FGGGTKLTVL
26	23G1	--T----	----------	N----T-M-	----------
27		EGSKRPS	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC	CSYAGSST	FGGGTKLTVL
28	13H1	-V-----	----------	--------LV	----------
29		SNNQRPS	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYC	AAWDDSLN V	FGGGTKLTVL
30	9C9	R-----L	----------	--------W-	----------
31	9H6	---R---	----------	--------W-	----------
32	31A4	-------	----------	-V------GWV	----------
33	1A12	---R---	----------	--------W-	--A-------
34		DNNKRPS	GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC	GTWDSSLSAYV	FGTGTKVTVL
35	16F12	-Y-----	----------	----------	-----R----
36	22E2	-Y-----	----------	--------G--	-----R----
37	27A6	-Y-----	----------	--------S--	-----R----
38	28B12	-Y-----	----------	--------G--	-----R----
39	28D6	-Y-----	----------	--------G--	-----R----
40	31G11	-S-----	----------D----------	----------	----------
41		DNNKRPS	GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC	GTWDSSLSAVV	FGGGTKLTVL
42	13B5	-------	---------N----------	----------	----------
43		QDSKRPS	GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC	QAWDSSTAVV	FGGGTKLTVL
44	31B12	-NT-W-L	---------K----V----------	------- V-	----------
45		VGTGGIVGSKGD	GIPDRFSVLGSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHC	GADHGSGSNFVVV	FGGGTKLTVL
46	3B6	-D---------E	----------	-------T-----	----------
45		VGTGGIV	GSKGDGIPDRFSVLGSGLNRYLTIKNIQEEDE	SDYHCGADHGSGSNFVVV	FGGGTKLTVL
46	3B6v1	-D-----	----E----------	----------T-----	----------

Fig. 3A

Seq ID No.	DÒNG	V	D	J	FR1	CDR1	FR2
47		Dòng mầm			QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTSYGIS	WVRQAPGQGLEWMG
48	20D10	VH1-18		JH6B	-I----------	--PL------	----------
49	26E10	VH1-18		JH6B	----------	---L------	----------
49	21B12	VH1-18		JH6B	----------	---L------	----------
50	23G1	VH1-18		JH6B	----------	---L------	----------
51	26H5	VH1-18		JH6B	----------	---L------	----------
52	27H5	VH1-18		JH6B	----------R----------	---L------	----------
53	31D1	VH1-18		JH6B	-I----------	---L------	----------
54	27E7	VH1-18		JH6B	----------L--------	--SL------	----------
55	30B9	VH1-18		JH6B	----------	--PL------	----------
56	19H9	VH1-18		JH6B	----------	--AL------	----------
57	17C2	VH1-18		JH6B	----------	--S-------	----------
58	25A7	VH1-18		JH6B	----------	----P-----	----------
59		Dòng mầm			QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTSYGIS	WVRQAPGQGLEWMG
60	3B6	VH1-18		JH4B	----------	----------	----------
61		Dòng mầm			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYWMS	WVRQAPGKGLEWVA
62	9H6	VH3-7	D7-27	JH3A	----------	-----R----	----------
63		Dòng mầm			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYWMS	WVRQAPGKGLEWVA
64	9C9	VH3-7	D7-27	JH3B	----------VV-	----------	----------
65	1A12	VH3-7	D7-27	JH3B	----------	-L---NF---	----------
66		Dòng mầm			EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYSMN	WVRQAPGKGLEWVS
67	31H4	VH3-21	D3-3	JH3A	----------	----------	----------
68		Dòng mầm			EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMS	WVRQAPGKGLEWVS
69	13B5	VH3-23		JH4B	----------	----------	----------

Fig. 3B

Seq ID No.	DÒNG	V	D	J	FR1	CDR1	FR2
70		Dòng mầm			EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSSYAMS	WVRQAPGKGLEWVS
71	23B5	VH3-23	D2-8	JH4B	----------	---------N	----------
72	25G4	VH3-23	D2-8	JH4B	----------	---------N	----------
73		Dòng mầm			QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	GFTFSSYGMH	WVRQAPGKGLEWVA
74	30A4	VH3-33		JH6B	----------	----------	----------
75		Dòng mầm			QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	GFTFSSYGMH	WVRQAPGKGLEWVA
76	27A6	VH3-33	D6-6	JH6B	--H----------	----N-F---	----------
77	28B12	VH3-33	D6-6	JH6B	----------	------F---	----------
289	28B12v1	VH3-33	D6-6	JH6B	--H----------	------F---	----------
78	28D6	VH3-33	D6-6	JH6B	----------	------F---	----------
79	16F12	VH3-33	D6-6	JH6B	--H----------	----N-F---	----------
80	22E2	VH3-33	D6-6	JH6B	----------	------F---	----------
81	31B12	VH3-33	D6-6	JH6B	----------	----------	----------
290	31B12v1	VH3-33	D6-6	JH6B	----------	----------	----------C--
82		Dòng mầm			QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	GFTFSSYGMH	WVRQAPGKGLEWVA
83	31G11	VH3-33	D6-19	JH6B	----------	----R-----	----------
84		Dòng mầm			QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS	GGSISSGGYYWS	WIRQHPGKGLEWIG
85	3C4	VH4-31		JH6B	----------	------SD----	----------
86		Dòng mầm			QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS	GGSISSGGYYWS	WIRQHPGKGLEWIG
87	27B2	VH4-31	D5-5	JH4B	----------	----------	----------
88		Dòng mầm			QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVY	GGSFSGYYWS	WIRQPPGKGLEWIG
89	31A4	VH4-34	D6-6	JH4B	----------	-----A---N	----------
90		Dòng mầm			QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAIS	GDSVSSNSAAWN	WIRQSPSRGLEWLG
91	13H1	VH6-1		JH4B	----------	----------	----------

Fig. 3C

Seq ID No.	DONG	CDR2	FR3	CDR3	FR4
47		WISAYNGNTNYAQKLQG	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR	YGMDV	WGQGTTVTVSS
48	20D10	----------V--	S----------V----------	G-----	----------
49	26E10	-V-F----------	-G-----P----------	G-----	----------
49	21B12	-V-F----------	-G-----P----------	G-----	----------
50	23G1	-V-F----------	-G-----P----------	G-----	----------
51	26H5	---F---------V--	----------V----------	G-----	----------
52	27H5	---V---------V--	----------V---------S	G-----	----------
53	31D1	---F---------V--	----------V---------F--	G-----	----------
54	27E7	----------V--	----------V---V----------	G-----	----------
55	30B9	----------V--	----------V----------	G-----	----------
56	19H9	----------V--	----------V----------	G-----	----------
57	17C2	-V----------F--	----------	G-V---	----------
58	25A7	----------E-----	----------V---------F----	G-V---	----------
59		WISAYNGNTNYAQKLQG	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR	GY DY	WGQGTLVTVSS
60	3B6	---T----------V--	----------	--TR--	----------
61		NIKQDGSEKYYVDSVKG	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	NWG AFDV	WGQGTMVTVSS
62	9H6	----H----------	----------	ES---F----	--H-------
63		NIKQDGSEKYYVDSVKG	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	NWG AFDI	WGQGTMVTVSS
64	9C9	----------	----------	ES---F----	----------
65	1A12	----------	----------S-T-	ES---F----	----------
66		SISSSSSYIYYADSVKG	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	DYDFWSGYYTAFDV	WGQGTMVTVSS
67	31H4	----------S----------	----------F----	------A--D-----	----------
68		AISGSGGSTYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	FDY	WGQGTLVTVSS
69	13B5	T------R----------	----------	EVGSP---	----------

Fig.3D

Seq ID No.	DONG	CDR2	FR3	CDR3	FR4
70		AISGSGGSTYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	VLMVYA DY	WGQGTLVTVSS
71	23B5	T------DN---------	----------------------------------	KF------ML--	----------
72	25G4	T---------N-------	----------------------------------	KF------ML--	----------
73		VIWYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	YYYGMDV	WGQGTTVTVSS
74	30A4	-------D----------	----------------------------------	ETGPLKL-------	----------
75		VIWYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	IAA GMDV	WGQGTTVTVSS
76	27A6	L--S---D----------	----------------------------------	AIAALYYYY----	----------
77	28B12	L--N----------------	----------------------------------	AIAALYYYY----	--H-------
78	28D6	L--N----------------	----------------------------------	AIAALYYYY----	----------
79	16F12	L--S---DE---------	----------------------------------	AIAALYYYY----	----------
80	22E2	L--N----------------	----------------------------------	AIAALYYYY----	----------
291	22E2v1	L--N----------------	----------------------------------	AIAALYYYY----	----------
81	31B12	I-------------------	----------------------------------	RGGLAARPG----	----------
292	31B12v1	I-------------------	----------------------------------	RGGL----PG----	----------
82		VIWYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	GIAVAYYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
83	31G11	L--E----T--V------	----------------------------------	----------	----------
84		YIYYSGSTYYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	YYYGMDV	WGQGTTVTVSS
85	3C4	------------------	-I----------L-----------------	GGVTT---A----	----------
86		YIYYSGSTYYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	EDTAMV YFDY	WGQGTLVTVSS
87	27B2	---N----------------	----------------------------------	------P-----	----------
88		EINHSGSTNYNPSLKS	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	GQLV FDY	WGQGTLVTVSS
89	31A4	------R-D---------	----------K-------N---------------	----P-----	----------
90		RTYYRSKWYNDYAVSVKS	RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAR	FDY	WGQGTLVTVSS
91	13H1	----------KN-S------	----------G----------	GGPTAA----	----------

Fig. 3E

31H4

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGA
GACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATAGCATGAACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTAGT
TACATTTCCTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC
AAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTA
TTTCTGTGCGAGAGATTACGATTTTTGGAGTGCTTACTATGATGCTTTTGATGTCTGG
GGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA3' **(SEQ ID NO: 152)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYISY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDYDFWSAYYDAFDVWGQGT
MVTVSS **(SEQ ID NO: 67)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCA
CCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGT
ACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTCTGGTAACAGCAATCGGC
CCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACA
GCAGCCTGAGTGGTTCGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 153)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLISGNSNRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSVFGGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 12)**

Fig. 3F

20D10

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGATTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACCCCTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGCGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCT3' **(SEQ ID NO: 92)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WISAYNGNTNYAQKVQGSVTMTTDTSTSTVYMELRSLRSDDTAVYYCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 48)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGTACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAA
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 93)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQYPGKPPKLKIYE
VSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGGG
TKLTVL **(SEQ ID NO: 19)**

Fig. 3G

26E10

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCA
GTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTAACCAGCTATGGTATCAG
CTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGGTCAGT
TTTTATAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGGCACCA
TGACCACAGACCCATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAG
ATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTACGGTATGGACGTC
TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCT3' **(SEQ ID NO: 94)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVS
FYNGNTNYAQKLQGRGTMTTDPSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGYGMDV
WGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 49)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGA
TCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTCTGTC
TCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATGATTTATGAGG
TCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC
AACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATT
ATTACTGCAATTCATATACAAGCACCAGCATGGTATTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 95)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSN
RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCNSYTSTSMVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 23)

Trình tự nucleotit khác của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ **(26E10v1):**
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGA
TCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTCTGTC
TCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATGATTTATGAGG
TCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC
AACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATT
ATTACTGCAACTCATATACAAGCACCAGCATGGTATTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 293)**

Fig. 3H

26H5

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAAGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCTTTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCT3' **(SEQ ID NO: 96)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WISFYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMELRSLRSDDTAVYYCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 51)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTATTCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 97)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIY
EVSNRPSGVSIRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGGG
TKLTVL **(SEQ ID NO: 17)**

Fig. 3I

31D1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGATTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCTTTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTTCTGT
GCGAGAGGTTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 98)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WISFYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMELRSLRSDDTAVYFCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 53)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCGTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGCCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 99)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIY
EVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGG
GTKLAVL **(SEQ ID NO: 18)**

Fig. 3J

23G1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTAACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGGTCAGTTTTTATAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTC
CAGGGCAGAGGCACCATGACCACAGACCCATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 100)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WVSFYNGNTNYAQKLQGRGTMTTDPSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 50)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCACTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAACTCATATACAAGCACCAGCA
TGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 101)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIY
EVTNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCNSYTSTSMVFGG
GTKLTVL **(SEQ ID NO: 26)**

Fig. 3K

27B2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGT
GGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAG
TGGATTGGGTACATATATAACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCC
CTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCT
CCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTG
TGCGAGAGAGGATACAGCTATGGTTCCTTACTTTGACTACTGGGGCCAG
GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 102)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIG
YIYNSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREDT
AMVPYFDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 87)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTACTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCA
GAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCACA
TTATGATGTGCACTGGTACCAGCAGGTTCCAGGAACAGCCCCCAAACT
CCTCATCTATGGTAACACCTATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTC
TCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCC
AGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAACAGCC
TGAGTGGTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3'
(SEQ ID NO: 103)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQVPGTAPKLLIY
GNTYRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDNSLSGVVF
GGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 13)**

Fig. 3L

16F12

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAACAGCTTT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCACTTATCTGGTCTGATGGAAGTGATGAATACTATGCAGACTCCGTGA
AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTG
CGAGAGCCATAGCAGCCCTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG
GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 104)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVHLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKGLEWVA
LIWSDGSDEYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARA
IAALYYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 79)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAA
TTTTGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACTATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGA
GTGCTTATGTCTTCGGAACTGGGACCAGGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 105)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDY
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAYVFGT
GTRVTVL **(SEQ ID NO: 35)**

Fig. 3M

22E2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGCAGCTTT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCACTTATATGGAATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT
GCGAGAGCCATAGCAGCCCTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGG
GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 106)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVA
LIWNDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
AIAALYYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 80)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAA
TTTTGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACTATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGTCTGA
GTGGTTATGTCTTCGGAACTGGGACCAGGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 107)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDY
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSGYVFGT
GTRVTVL **(SEQ ID NO: 36)**

Fig. 3N

27A6

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAACAGCTTT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCACTTATATGGTCTGATGGAAGTGATAAATACTATGCAGACTCCGTGA
AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTG
CGAGAGCCATAGCAGCCCTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG
GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 108)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVHLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKGLEWVA
LIWSDGSDKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARA
IAALYYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 76)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGTTCCAACATTGGGAATAAT
TTTGTATCCTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCA
TTTATGACTATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTGG
CTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGACT
GGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGAGT
TCTTATGTCTTCGGAACTGGGACCAGGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 109)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQFPGTAPKLLIYDY
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSSYVFGT
GTRVTVL **(SEQ ID NO: 37)**

Fig. 3O

28B12

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGCAGCTTT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCACTTATATGGAATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT
GCGAGAGCCATAGCAGCCCTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGG
GGCCACGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 110)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVA
LIWNDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
AIAALYYYYGMDVWGHGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 77)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAA
TTTTGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACTATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGA
GTGGTTATGTCTTCGGAACTGGGACCAGGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 111)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDY
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSGYVFGT
GTRVTVL **(SEQ ID NO: 38)**

Fig. 3P

28D6

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGA
GACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGCAGCTTTGGCATGCA
CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTAT
ATGGAATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG
AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
ATAGCAGCCCTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 112)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVA
LIWNDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
AIAALYYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 78)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCACAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAA
TTTTGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACTATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTACTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGA
GTGGTTATGTCTTCGGAACTGGGACCAGGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 113)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPTVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDY
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSGYVFGT
GTRVTVL **(SEQ ID NO: 39)**

Fig. 3Q

31G11

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGGAGCTAT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCACTTATATGGCATGATGGAAGTAATACATACTATGTAGACTCCGTGA
AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTG
CGAGAGGTATAGCAGTGGCTTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG
GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 114)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRSYGMHWVRQAPGKGLEWV
ALIWHDGSNTYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RGIAVAYYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 83)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGGAATAA
TTTTGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACAGTAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGACATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGA
GTGCTTATGTTTTCGGAACTGGGACCAAGGTCACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 115)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDS
NKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLDITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAYVFGT
GTKVTVL **(SEQ ID NO: 40)**

Fig. 3R

23B5

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTAT
GCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTC
TCAACTATTAGTGGTAGTGGTGATAACACATACTACGCAGACTCCGTGA
AGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTG
CGAAAAAGTTTGTACTAATGGTGTATGCTATGCTTGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 116)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVS
TISGSGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKK
FVLMVYAMLDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 71)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'GACATCCTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGTTAT
TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATC
TATGCTGCCTCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAACAGTCTGCAACCTGA
AGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTTCCCCCATCACC
TTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA3' **(SEQ ID NO: 117)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
DILMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKVLIYAAS
SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQSYSSPITFGQGTRLE
IK **(SEQ ID NO: 9)**

Fig. 3S

25G4

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTAT
GCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTC
TCAACTATTAGTGGTAGTGGTGGTAACACATACTACGCAGACTCCGTGA
AGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTG
CGAAAAAGTTTGTACTAATGGTGTATGCTATGCTTGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 118)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVS
TISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKK
FVLMVYAMLDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 72)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTATCTGCATCTGTAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCATCTAT
TTAAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCTTACCTCCTGATCT
ATGCTGCAGCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGA
AGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTGCCCCCATCACC
TTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA3' **(SEQ ID NO: 119)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISIYLNWYQQKPGKAPYLLIYAAA
SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSAPITFGQGTRLE
IK **(SEQ ID NO: 10)**

Fig. 3T

27E7

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCACTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACAGTTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGGTGAGGAGTCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 120)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASLKVSCKASGYSLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WISAYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMEVRSLRSDDTAVYYCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 54)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAATACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 121)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIY
EVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGG
GTKLTVL **(SEQ ID NO: 20)**

Fig. 3U

27H5

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAGGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCGTTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGCTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 122)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WISVYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMELRSLSSDDTAVYYCAR
GYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 52)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTATTCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 123)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIY
EVSNRPSGVSIRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGGG
TKLTVL **(SEQ ID NO: 16)**

Fig. 3V

30B9

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCA
GTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACCCCTTGACCAGCTATGGTATCAG
CTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGC
GCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTCCAGGGCAGAGTCACCA
TGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTACATGGAGTTGAGGAGCCTGAG
ATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTACGGTATGGACGTC
TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 124)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPLTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA
YNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMELRSLRSDDTAVYYCARGYGMDV
WGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 55)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGA
TCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTCTGTC
TCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCATGATTTATGAGG
TCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC
AATACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATT
ATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCATGGTCTTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 125)**

Trình tự nucleotit khác của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGA
TCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTCTGTC
TCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCATGATTTATGAGG
TCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC
AACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATT
ATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCATGGTCTTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 294)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIYEVSN
RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 21)

Fig. 3W

19H9

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGTTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACGCCTTGACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGGTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGTCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 126)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYALTSYGISWVRQAPGQGLEWM
GWISAYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTVYMELRSLRSDDTAVYYCA
RGYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 56)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAACAGTGACGTTGGTGGTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGATTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATACAAGCACCAGCAT
GGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 127)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTNSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPKLMIY
EVSNRPSGISNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTSTSMVFGGG
TKLTVL **(SEQ ID NO: 22)**

Fig. 3X

17C2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGC
CTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACAGCTTTACCAGCTAT
GGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG
GGATGGGTCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGTTC
CAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAACTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGCTACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC
GTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 128)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYGISWVRQAPGQGLEWMG
WVSAYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA
RGYVMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 57)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTTTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGCTTATA
ACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACGCA
TGATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTC
TGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAG
GCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATACAAGCACCAAC
ATGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 129)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNSVSWYQQHPGKAPKRMIY
EVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSTNMVFGG
GTKLTVL **(SEQ ID NO: 24)**

Fig. 3Y

13H1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTACAGTTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCA
GACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAAC
AGTGCTGCTTGGAACTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAG
TGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAAAAATTATTCA
GTATCTGTGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAAC
CAGTTCTCTCTGCAACTGAACTCTGTGACTCCCGGGGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCAAGAGGGGGGCCAACTGCTGCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 130)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLG
RTYYRSKWYKNYSVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPGDTAVYYCAR
GGPTAAFDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 91)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CTTTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG
TCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGATGTTGGGAATTATA
ACCTTGTCTCCTGGTACCAACAGTATTCAGGCAAAGCCCCCAAACTCAT
GATTTATGAGGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACAATCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCTGCTCATATGCAGGTAGTAGCAC
TTTGGTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 131)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
LSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGNYNLVSWYQQYSGKAPKLMIY
EVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTLVFG
GGTKLTVL **(SEQ ID NO: 28)**

Fig. 3Z

9C9

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'GAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGTCTCTGGATTCACCTTTAGTAGCTATT
GGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGG
CCAACATAAAGCAAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTGA
AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATATTACTGTG
CGAGAGAGTCAAACTGGGGATTTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGA
CAATGGTCACCGTCTCTTCA3' **(SEQ ID NO: 132)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVSGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVA
NIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE
SNWGFAFDIWGQGTMVTVSS **(SEQ ID NO: 64)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCA
GAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAA
GACTGTAAACTGGTACCAACAGGTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCT
CATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTTAGGGGTCCCTGACCGATTCTCT
GGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGT
CTGAGGATGAGGCTGATTATTATTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGA
ATTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 133)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSKTVNWYQQVPGTAPKLLIYRN
NQRPLGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNWVFGG
GTKLTVL **(SEQ ID NO: 30)**

Fig. 3AA

9H6

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGTCGCTATT
GGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGG
CCAACATAAAGCATGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTGA
AGGGCCGATTCACCATTTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTG
CGAGAGAGTCAAACTGGGGATTTGCTTTTGATGTCTGGGGCCACGGGA
CAATGGTCACCGTCTCTTCA3' **(SEQ ID NO: 134)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVA
NIKHDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE
SNWGFAFDVWGHGTMVTVSS **(SEQ ID NO: 62)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGCCCCCCGGACA
GAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAAT
ACTGTAAACTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTC
ATCTATAGTAATAATCGGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTC
TGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAA
TTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 135)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSVLTQPPSASGPPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSN
NRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNWVFGG
GTKLTVL **(SEQ ID NO: 31)**

Fig. 3BB

13B5

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTAT
GCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTC
TCAACTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGGACATATTACGCAGACTCCGTGA
AGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTG
CGAAAGAAGTTGGCAGTCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGG
TCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 136)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVST
ISGSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEV
GSPFDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 69)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA
GAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAACTCCAACATTGGGAATAA
TTATGTATCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTC
ATTTATGACAATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTG
GCTCCAACTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGA
CTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGA
GTGCTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 137)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSNSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYD
NNKRPSGIPDRFSGSNSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAVVFG
GGTKLTVL **(SEQ ID NO: 42)**

Fig. 3CC

31B12

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGC
ACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATG
GTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACC
ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACACTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGA
GAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGAGGGGGGGTCTGGCAGC
TCGTCCGGGCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC
TCA3' **(SEQ ID NO: 138)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWY
DGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGGLAARP
GGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 81)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCTGTGTCCCCAGGACAGACA
GCCAGAATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGCTGGT
ATCAGCAGAAACCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAAATACCAA
GTGGCCCTTAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGGAACACA
GTCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACT
GTCAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGAC
CGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 139)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQNTKWP
LGIPERFSGSKSGNTVTLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 44)

Trình tự nucleotit khác của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACA
GCCAGAATCACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGCTGGT
ATCAGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAAATACCAA
GTGGCCCTTAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGGAACACA
GTCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATGGATGAGGCTGACTATTACT
GTCAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGAC
CGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 295)**

Fig. 3DD

3C4

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGT
GATTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAG
TGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCC
TCAAGAGTCGAATTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCTGTTCTC
CCTGAAGTTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGAGGGGGGGTGACTACGTACTACTACGCTATGGACGTCTGGGGC
CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 140)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSSDYYWSWIRQHPGKGLEWIG
YIYYSGSTYYNPSLKSRITISVDTSKNLFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGVT
TYYYAMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 85)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'GACATACAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGCGCATTAGCAACTAT
TTAAGTTGGTATCTGCAGAAACCAGGGATTGCCCCTAAGCTCCTGATCT
ATGCTGCATCCAGTTTGCAGAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAATCTGA
AGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGCTCATT
TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA3' **(SEQ ID NO: 141)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQRISNYLSWYLQKPGIAPKLLIYAAS
SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQQSYSTPLIFGGGTKVE
IK **(SEQ ID NO: 7)**

Fig. 3EE

30A4

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTAT
GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG
GCAGTTATATGGTATGATGGAAGTGATAAATACTATGCAGACTCCGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT
GCGAGAGAGACTGGTCCCTTGAAACTCTACTACTACGGTATGGACGTCT
GGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 142)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWYDGSDKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
ETGPLKLYYYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 74)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGA
GAGCCGCCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTA
ATGGATACAACTTTTTGAATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC
ACAACTCCTGATCTATTTGGGTTCTCATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGAC
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGGAAATCAGC
AGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGTTCTAC
AAACTCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA3'
(SEQ ID NO: 143)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
DIVMTQSPLSLSVTPGEPPSISCRSSQSLLHSNGYNFLNWYLQKPGQSPQLLI
YLGSHRASGVPDRFSGSGSGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQVLQTPFTFG
PGTKVDIK **(SEQ ID NO: 5)**

Fig. 3FF

1A12

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGG
GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCTTTAGTAA
CTTTTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG
TGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGG
ACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAA
TTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT
GTGTATTCCTGTACGAGAGAGTCAAACTGGGGATTTGCTTTTGATAT
CTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA3' **(SEQ ID NO: 144)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSNFWMSWVRQAPGKGLEW
VANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYS
CTRESNWGFAFDIWGQGTMVTVSS **(SEQ ID NO: 65)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGC
AGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGT
AAAACTGTAAACTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCCCCAAAC
TCCTCATCTATAGTAATAATCGGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGA
TTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGG
GCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATG
ACAGCCTGAATTGGGTGTTCGGCGCAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
3' **(SEQ ID NO: 145)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSKTVNWYQQFPGTAPKLLIYS
NNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNWV
FGAGTKLTVL **(SEQ ID NO: 33)**

Fig. 3GG

3B6

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAG
CTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGT
GGATGGGATGGATCAGCACTTACAATGGTAACACAAACTATGCACA
GAAGGTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCG
TTTATTACTGTGCGAGAGGGTATACTCGGGACTACTGGGGCCAGGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' **(SEQ ID NO: 146)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW
MGWISTYNGNTNYAQKVQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARGYTRDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 60)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGCCTGTGCTGACTCAGCCACTTTTTGCATCAGCCTCCCTGGGAG
CCTCGGTCACACTCACCTGCACCCTGAGCAGCGGCTACAGTAGTTAT
GAAGTGGACTGGTATCAGCAGAGACCAGGGAAGGGCCCCCGGTTTG
TCATGCGAGTGGACACTGGTGGGATTGTGGGATCCAAGGGGGAAGG
CATCCCTGATCGCTTCTCAGTTTTGGGCTCAGGCCTGAATCGGTATCT
GACCATCAAGAACATCCAGGAAGAGGATGAGAGTGACTACCACTGT
GGGGCAGACCATGGCAGTGGGACCAACTTCGTGGTGGTATTCGGCG
GAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA3' **(SEQ ID NO: 147)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QPVLTQPLFASASLGASVTLTCTLSSGYSSYEVDWYQQRPGKGPRFVM
RVDTGGIVGSKGEGIPDRFSVLGSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHCGADH
GSGTNFVVVFGGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 46)**

Fig.3HH

31A4

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCG
GAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGC
GTACTACTGGAACTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG
TGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGAACCGACTACAACCCGT
CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAAGCA
GTTCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCGAGAGGGCAGCTCGTCCCCTTTGACTACTGGGGCCAG
GGAACCCTGGTCACCGTCTCTTCA3' **(SEQ ID NO: 148)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWNWIRQPPGKGLEWI
GEINHSGRTDYNPSLKSRVTISVDTSKKQFSLKLNSVTAADTAVYYCAR
GQLVPFDYWGQGTLVTVSS **(SEQ ID NO: 89)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGC
AGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGT
AATACTGTAAATTGGTATCAGCAACTCCCAGGAACGGCCCCCAAACT
CCTCATCTATAGTAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGAT
TCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGG
CTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGTATGGGATGA
CAGCCTGAATGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTC
CTA3' **(SEQ ID NO: 149)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIY
SNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAVWDDSLNG
WVFGGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 32)**

Fig. 3II

25A7

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTCCCAG
CTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGT
GGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCAGA
GAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGC
ACAGCCTACATGGAGGTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCG
TGTTTTACTGTGCGAGAGGCTACGTTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTCT3' **(SEQ ID NO: 150)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFPSYGISWVRQAPGQGLEW
MGWISAYNGNTNYAEKLQGRVTMTTDTSTSTAYMEVRSLRSDDTAVF
YCARGYVMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 58)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGAC
AGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTCGT
TATAATTCTGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAAGCCCCCAA
AGTCATGATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTACTC
GCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCT
GGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATAC
AAGCAGCAGCGTTGTATTCGGCGGAGGGACCAAACTGACCGTCCTA
3' **(SEQ ID NO: 151)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGRYNSVSWYQHHPGKAPKVM
IYEVSNRPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSVVF
GGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 15)**

Fig. 3JJ

21B12

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
5'CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG
GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTAACCAG
CTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGT
GGATGGGATGGGTCAGTTTTTATAATGGTAACACAAACTATGCACAG
AAGCTCCAGGGCAGAGGCACCATGACCACAGACCCATCCACGAGCA
CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGT
GTATTACTGTGCGAGAGGCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTCT3' **(SEQ ID NO: 94)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEW
MGWVSFYNGNTNYAQKLQGRGTMTTDPSTSTAYMELRSLRSDDTAVY
YCARGYGMDVWGQGTTVTVSS **(SEQ ID NO: 49)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGAC
AGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGT
TATAACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAA
ACTCATGATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATC
GCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCT
GGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAATTCATATAC
AAGCACCAGCATGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
3' **(SEQ ID NO: 296)**

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLM
IYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCNSYTSTSMV
FGGGTKLTVL **(SEQ ID NO: 23)**

Fig. 3KK

Miền ổn định

IgG2 của người:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV
ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 154)

IgG4 của người:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV
ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 155)

lamda của người:

QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK
AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT
VAPTECS (SEQ ID NO: 156)

kapa của người:

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC (SEQ ID NO: 157)

Fig. 3LL

5H5.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGGTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTG
GGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCA
CCGGCTACTATATACACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTCACAGTGGTGGCGCAAA
CTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACA
CGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCAACTGGAACTA
CGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:418)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQVVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGL
EWMGWINPHSGGANYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDD
TAVYYCARGNWNYDYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:419)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT
AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCGAGTCAGGACATTA
GCAATTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTA
AGCTCCTGATCTATGCTGCATCCACTTTGCAATCAGGGGTCCCAT
CTCGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGCAGCCTACAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTTCTGTCAAA
GGTATCAGATTGCCCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAGGTGG
ATATCAAA3' (SEQ ID NO:420)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKLL
IYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQRYQIAPF
TFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:421)

Fig. 3MM

24F7.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATCTGGTATGATGGAAGTACTAAATAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATCTCCAGAGACAAT
TCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGA
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTACCA
CTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:422)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWYDGSTKYYADSVKGRSTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 423)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAGGCT
ATTATGCAACCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTATGGTAAAAACTACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACTCC
CGGGACAGCATTGGTAACCATCTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:424)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRGYYATWYQQKPRQAPVLV
IYGKNYRPSGIPDRFSGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSIG
NHLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:425)

Fig. 3NN

22B11.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAGCTATGGCTTGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTTAGATGGAAGTAATAAATA
CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATCTCCAGAGACA
ATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTAC
CACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGT
CACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:426)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGLHWVRQAPGKGLE
WVAVIWLDGSNKYYADSVKGRSTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:427)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGTT
ATTATGGAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTTTGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACTC
ACGGGACATCATTGGTGACCATCTGCTGTTCGGCGGAGGGACCA
AGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:428)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYGSWYQQKPRQAPVLVI
FGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDIIGD
HLLFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:429)

Fig. 300

30F1.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGTCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GGAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTTTGATGGAAGTAATAAATAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATCTCCAGAGACAAT
TCCAAGAACACGCTGTATCTGCTAATGAACAGCCTGAGAGCCGA
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTACCA
CTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA3'(SEQ ID NO:430)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWFDGSNKYYADSVKGRSTISRDNSKNTLYLLMNSLRAEDT
AVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:431)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAGGGAGACAGCCTCAGAAGCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGAATCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAAATC
CCGGGACATCATTGGTGACCATCTGGTGTTCGGCGGAGGGACCA
AACTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:432)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPRQAPVLVI
YGKNNRPSGIPDRISGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDIIGD
HLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:433)

Fig. 3PP

24B9.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATA
CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAGATCGGGGACTGGAC
TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID
NO:434)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCVRDRGLDWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:435)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAGGCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAAGTC
CCGGGACAGCAGTGGTGACCATCTGGTGTTCGGCGGAGGGACCA
AGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:436)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRGYYASWYQQKPRQAPVLV
IYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDSSG
DHLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:437)

Fig. 3QQ

24B9.2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATTTGGTATGATGGAAGTAGTAAATAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATCTCCAGAGACAAT
TCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGA
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTACCA
CTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA3'(SEQ ID NO:438)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQVVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWYDGSSKYYADSVKGRSTISRDNSKNTVYLQMNSLRAED
TAVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:439)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAGGCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAAGTC
CCGGGACAGCAGTGGTGACCATCTGGTGTTCGGCGGAGGGACCA
AGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:440)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRGYYASWYQQKPRQAPVLV
IYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDSSG
DHLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:441)

Fig.3RR

20A5.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGTCTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTTATAAAGA
CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATCTCCAGAGACA
ACTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTAC
CACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGT
CACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:442)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVVQPGRSLSLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE
WVAVIWYDGSYKDYADSVKGRSTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:443)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTATT
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAATCACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAAATC
CCGGGACATCATTGGTAACCATCTGCTGTTCGGCGGAGGGACTAA
GCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:444)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPRQAPILVI
YGKNNRPSGIPDRFSGSTSGITASLTITGAQAEDEADYYCKSRDIIGN
HLLFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:445)

Fig.3SS

20A5.2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGCGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCCTCA
GTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCCAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTCATATGGTATGATGGAAGTAACAAATA
CTATGCAGCCTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGTGGTTCGGGG
AGTCATCGCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:446)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVASGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMHWVRQAPGQGL
EWVAVIWYDGSNKYYAASVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARGGGSGSHRYYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID
NO:447)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTATT
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAATCACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAAATC
CCGGGACATCATTGGTAACCATCTGCTGTTCGGCGGAGGGACTAA
GCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:448)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPRQAPILVI
YGKNNRPSGIPDRFSGSTSGITASLTITGAQAEDEADYYCKSRDIIGN
HLLFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:449)

Fig. 3TT

20E5.1 – Phiên bản 1**(v1)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAAGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAGGTAATAAATA
CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCATCATCTCCAGAGACAA
TTCCAAGAGCACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTTTATTATTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTACC
ATTATTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCGCCTCA3' (SEQ ID NO:450)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQVVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWYDGGNKYYADSVKGRSIISRDNSKSTLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVAS (SEQ ID NO:451)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGG
ACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGG
TGGTTATAACTCTGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAACC
CCCCAAACTCATGATTTATGAGGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGAT
TTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTG
ACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTTCTGC
AGCTCATATACAAGCACCAGCATGGTCTTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGGCCGTCCTA3' (SEQ ID NO:452)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKPPK
LMIYEVSNRPSGISNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCSSYTST
SMVFGGGTKLAVL (SEQ ID NO:453)

Fig. 3UU

20E5.1 –Phiên bản 2 **(v2)**

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAAGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAGGTAATAAATA
CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCATCATCTCCAGAGACAA
TTCCAAGAGCACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTTTATTATTGTGCGAGGTCAGTGGCTGGTTACC
ATTATTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCGCCTCA3' (SEQ ID NO:454)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQVVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIWYDGGNKYYADSVKGRSIISRDNSKSTLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARSVAGYHYYYGMDVWGQGTTVTVAS (SEQ ID NO:455)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGG
ACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAGGCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGACAGGCCCCTGTA
CTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGAC
CGATTCTCTGGCTCCACGTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATC
ACTGGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACTCC
CGGGACAACATTGGTGACCATCTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAA
GCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:456)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRGYYASWYQQKPRQAPVLV
IYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDNIG
DHLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:457)

Fig. 3VV

8A3.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTA
GTAGCTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCCAGCATAAAACAAGATGGAAGTGAGAAATA
CTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
CGCCAGGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTTGTATTAATGG
TGTATGATATAGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC
AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:458)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLE
WVASIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTA
VYYCARDLVLMVYDIDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID
NO:459)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCC
TGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCT
GCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC
CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAG
ATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGG
GTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCGCTCACTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTAGAGATCAAA3' (SEQ ID NO:460)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS
PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ
ALQTPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:461)

Fig. 3WW

11F1.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTCACCTTTA
GTAACTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCCAGCATAAAACAAGATGGAAGTGAGAAATA
CTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCGCCATCTCCAGAGACAA
CGCCAAGAACTCACTGTTTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTTGTACTAATGG
TGTATGATATAGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC
AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:462)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGL
EWVASIKQDGSEKYYVDSVKGRFAISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDT
AVYYCARDLVLMVYDIDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID
NO:463)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCTGTCACCCCT
GGAGAGCCGGCCTCCATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG
CATAGTAATGGGTACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCA
GGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAT
CTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGAGT
TTATTACTGCATGCAAACTCTACAAACTCCGCTCACTTTCGGCGG
AGGGACCAAGGTGGAGATCAAA3' (SEQ ID NO:464)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS
PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTHLTLKISRVEAEDVGVYYCMQ
TLQTPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:465)

Fig. 3XX

12H11.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGCCCAGCCTG
GGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCA
GTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCAGTTATATACTATGATGGAATTAATAAACAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAAT
TCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGA
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCGGGGACTGGACT
GGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:466)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

QVQLVESGGGVAQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL
EWVAVIYYDGINKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARDRGLDWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:467)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCT
GGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTT
TATACAGCTCCAACAGTAAGAACTACTTAGTTTGGTACCAGCAGA
AACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCCTCTACCC
GGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG
ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTG
GCAGTTTATTACTGTCAACAATATTATAGTACTCCGTGGACGTTC
GGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA3' (SEQ ID NO:468)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNSKNYLVWYQQKPG
QPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ
QYYSTPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:469)

Fig. 3YY

11H4.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCTTTA
GTAACTTTTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAAATGATAAATA
CTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
CGCCAAGAATTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGTCAAACTGGGGA
TTTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT
TCA3' (SEQ ID NO:470)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSNFWMSWVRQAPGKGL
EWVANIKQDGNDKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED
TAVYYCARESNWGFAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:471)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGG
AAGTAAAACTGTAAACTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
CCAAACTCCTCATCTATAGTAATAATCGGCGGCCCTCAGGGGTCC
CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTG
CAGCATGGGATGACAGCCTGAATTGGGTGTTCGGCGCAGGGACC
AAGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:472)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSKTVNWYQQFPGTAPKLL
IYSNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDS
LNWVFGAGTKLTVL (SEQ ID NO:473)

Fig. 3ZZ

11H8.1

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTTTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCTTTA
GTAACTTTTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAAGTGAGAAATA
CTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
CGCCAAGAATTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
AGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGTCAAACTGGGGA
TTTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT
TCA3' (SEQ ID NO:474)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSNFWMSWVRQAPGKGL
EWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARESNWGFAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:475)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGG
GCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGG
AAGTAAAACTGTAAACTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCC
CCAAACTCCTCATCTATAGTAATAATCGGCGGCCCTCAGGGGTCC
CTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGG
CCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTG
CAACATGGGATGACAGACTGAATTGGGTGTTCGGCGCAGGGACC
AAGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:476)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSKTVNWYQQFPGTAPKLL
IYSNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCATWDDR
LNWVFGAGTKLTVL (SEQ ID NO:477)

Fig. 3AAA

11G1.5

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTGCTGGTGAAACCCAC
AGAGACCCTCACGCTGACCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCAG
CAATGTTAGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAGCCCCCAGGGA
AGGCCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCGAATGACGAAAATT
CCTACAGAACATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGAC
ACCTCCAAAAGCCAGGTGGTCCTTACCATGACCAACATGGACCCT
GTGGACACAGCCACATATTACTGTGCACGGATAGTGGGAGCTAC
AACGGATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAC
CGTCTCTTCA3' (SEQ ID NO:478)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:
QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNVRMGVSWIRQPPGKAL
EWLAHIFSNDENSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTAT
YYCARIVGATTDDAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:479)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGG
ACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTA
AAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTG
CTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAG
CGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATC
AGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTTTTACTGTCAGGT
GTGGGATAGTAGTAGTGATCCTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCA
AGCTGACCGTCCTA3' (SEQ ID NO:480)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV
VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADFYCQVWDSS
SDPVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:481)

Fig. 3BBB

8A1.2

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

5'GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTA
GTAACTATTGGATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
CTGGAGTGGGTGGCCAGCATAAAGCAAGATGGAAGTGAGAGATA
CTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCCGAGACAC
CGCCAAGAACTCTCTGTATCTCCAAATGAACAGCCTGCGAGCCGA
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACCTCTTGTACTAATGGT
GTATGCTCTACACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCA
CGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA3' (SEQ ID NO:482)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nặng:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMTWVRQAPGKGL
EWVASIKQDGSERYYVDSVKGRFTISRDTAKNSLYLQMNSLRAEDT
AVYYCARPLVLMVYALHYYYYGMDVWGHGTTVTVSS (SEQ ID
NO:483)

Trình tự nucleotit của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

5'GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCC
TGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCT
GCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGC
CTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAG
ATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGG
GTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCGCTCACTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA3' (SEQ ID NO:484)

Trình tự axit amin của vùng thay đổi của chuỗi nhẹ:

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS
PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ
ALQTPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:485)

Fig.3CCC

Vùng thay đổi của chuỗi nặng	SEQ ID NO:		Dòng mầm	FR1	CDR1	FR2
	493	VH1|1-02		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTGYYMH	WVRQAPGQGLEWMG
5H5.1G	419	VH1|1-02	JH6	---V----------	--------I-	----------
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1	CDR1	FR2
	494	VH3|3-33		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	GFTFSSYGMH	WVRQAPGKGLEWVA
24B9.1G	435	VH3|3-33	JH4	----------	----------	----------
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1	CDR1	FR2
	495	VH3|3-33		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	GFTFSSYGMH	WVRQAPGKGLEWVA
24F7.1G	423	VH3|3-33	JH6	----------	----------	----------
22B11.1G	427	VH3|3-33	JH6	----------	--------L-	----------
20A5.1G	443	VH3|3-33	JH6	----------S-	----------	----------
20A5.2G	447	VH3|3-33	JH6	-----A----------	---L------	-------Q--
30F1.1G	431	VH3|3-33	JH6	----------S-	----RN----	----------
20E5.1G	451	VH3|3-33	JH6	---V----------	-----N----	----------
24B9.2G	439	VH3|3-33	JH6	---V----------G-	-----N----	----------

Fig. 3DDD

Vùng thay đổi của chuỗi nặng	SEQ ID NO:	CDR2	FR3	CDR3	FR4
	493	WINPNSGGTNYAQKFQG	RVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR		
5H5.1G	419	----H---A--------	----------	GNWNYDYYGMDV	WGQGTTVTVSS
		CDR2	FR3	CDR3	FR4
	494	VIWYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR		
24B9.1G	435	----------	----------V-	DRGLD	WGQGTLVTVSS
		CDR2	FR3	CDR3	FR4
	495	VIWYDGSNKYYADSVKG	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR		
24F7.1G	423	-------T---------	-S----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
22B11.1G	427	---L----------	-S----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
20A5.1G	443	-------Y-D-------	-S----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
20A5.2G	447	----------A----	----------	GGGSGSHRYYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
30F1.1G	431	---F----------	-S----------L----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVSS
20E5.1G	451	------G----------	-SI-------S----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVAS
24B9.2G	439	-------S---------	-S----------V----------	SVAGYHYYYGMDV	WGQGTTVTVSS

Fig. 3EEE

Vùng thay đổi của kapa	SEQ ID NO:			FR1	CDR1	FR2
		Dòng mầm	Dòng mầm			
	496	VK1|A20		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASQGISNYLA	WYQQKPGKVPKLLIY
5H5.1K	421	VK1|A20	JK3	----------	----D------	----------
Vùng thay đổi của lamda						
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1	CDR1	FR2
	497	VL2|2a2		QSALTQPASVSGSPGQSITISC	TGTSSDVGGYNYVS	WYQQHPGKAPKLMIY
20E5.1L v1	453	VL2|2a2	JL2	----------	----------S--	----------P-----

		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1	CDR1	FR2
	498	VL3|3l		SSELTQDPAVSVALGQTVRITC	QGDSLRSYYAS	WYQQKPGQAPVLVIY
30F1.1L	433	VL3|3l	JL2	----------	----------	------R-------
22B11.1L	429	VL3|3l	JL2	----------	---------G-	------R-------F
24B9.1L	437	VL3|3l	JL2	----------	------G----	------R--------
24B9.2L	441	VL3|3l	JL2	----------	------G----	------R--------
20E5.1L v2	457	VL3|3l	JL2	----------	------G----	------R--------
24F7.1L	425	VL3|3l	JL2	----------	------G---T	------R--------
20A5.1L	445	VL3|3l	JL2	----------	------T----	------R---I----
20A5.2L	449	VL3|3l	JL2	----------	------T----	------R---I----

Fig. 3FF

Vùng thay đổi của kapa	SEQ ID NO:					
		CDR2	FR3	CDR3	FR4	
	496	AASTLQS	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC			
5H5.1K	421	-------	----------F-	QRYQIAPFT	FGPGTKVDIK	
Vùng thay đổi của lamda						
		CDR2	FR3	CDR3	FR4	
	497	EVSNRPS	GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC			
20E5.1L v1	453	-------	-I----------F-	SSYTSTSMV	FGGGTKLAVL	

	CDR2	FR3	CDR3	FR4
498	GKNNRPS	GIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC		
30F1.1L	433	-----I---T----------	KSRDIIGDHLV	FGGGTKLTVL
22B11.1L	429	----------T----------	NSRDIIGDHLL	FGGGTKLTVL
24B9.1L	437	----------T----------	KSRDSSGDHLV	FGGGTKLTVL
24B9.2L	441	----------T----------	KSRDSSGDHLV	FGGGTKLTVL
20E5.1L v2	457	----------T----------	NSRDNIGDHLV	FGGGTKLTVL
24F7.1L	425	---Y------T----------	NSRDSIGNHLV	FGGGTKLTVL
20A5.1L	445	----------T--I----------	KSRDIIGNHLL	FGGGTKLTVL
20A5.2L	449	----------T--I----------	KSRDIIGNHLL	FGGGTKLTVL

Fig. 3GGG

	SEQ ID NO:				SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:
			FR1			CDR1		FR2	
		Dòng mầm	Dòng mầm						
	486	VH2|226		QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVS	506	GFSLSNARMGVS	507	WIRQPPGKALEWLA	509
11G1.5	479	VH2|226	JH3	----------	506	------V-----	508	----------	509
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1		CDR1		FR2	
	487	VH3|307		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	510	GFTFSSYWMS	511	WVRQAPGKGLEWVA	514
11H8.1	475	VH3|307	JH3	----------	510	-L---NF---	512	----------	514
11H4.1	471	VH3|307	JH3	----------	510	-L---NF---	512	----------	514
8A3.1	459	VH3|307	JH6	----------	510	----------	511	----------	514
11F1.1	463	VH3|307	JH6	----------	510	-----N----	500	----------	514
8A1.2	483	VH3|307	JH6	----------	510	-----N---T	513	----------	514
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1		CDR1		FR2	
	488	VH3|3-33		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS	515	GFTFSSYGMH	517	WVRQAPGKGLEWVA	518
12H11.1	467	VH3|3-33	JH4	----------A----------	516	----------	517	----------	518

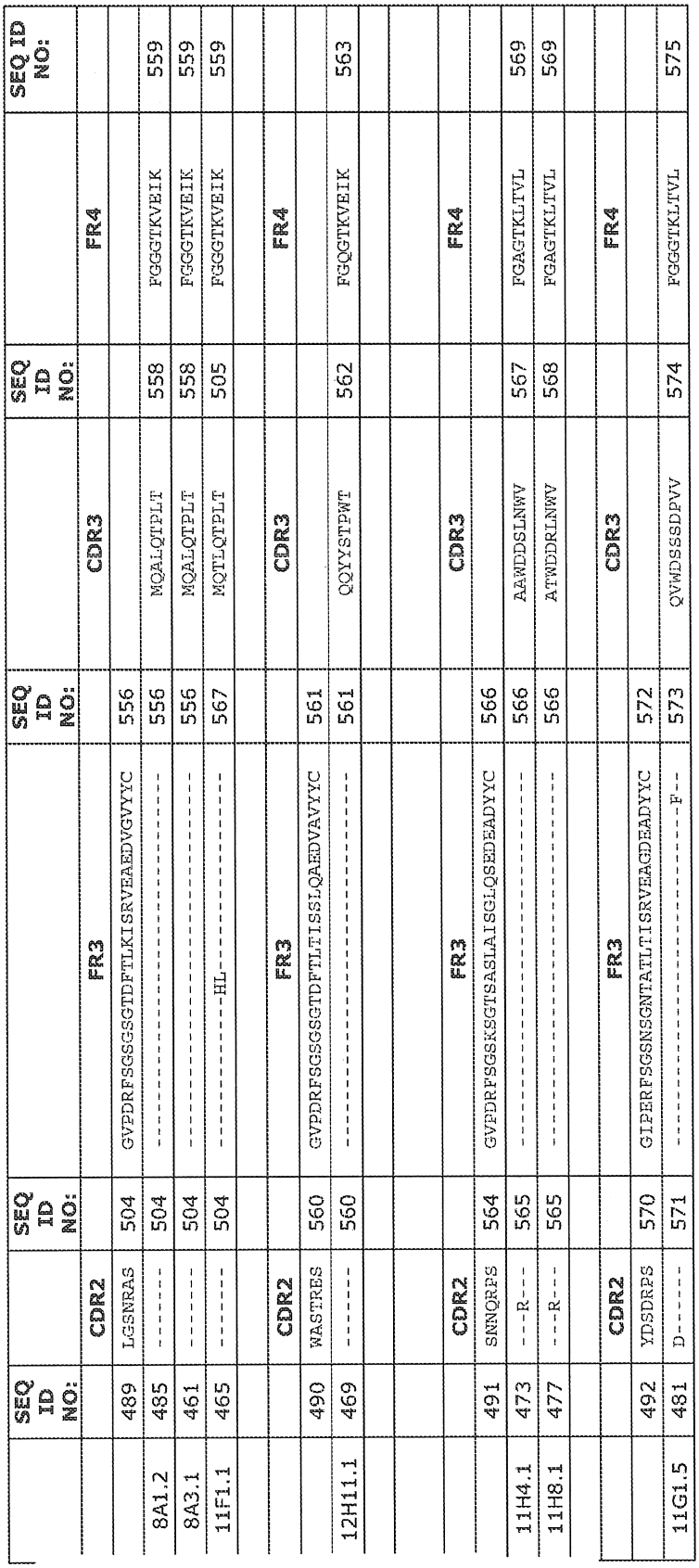
Fig. 3HHH

	SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:
				FR3		CDR3		FR4	
	486	HIFSNDEKSYSTSLKS	519	RLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARI	521		522		
11G1.5	479	------N--R-----	520	----------	521	VGATTDDAFDI		WGQGTMVTVSS	523
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	487	NIKQDGSEKYYVDSVKG	526	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	529				
11H8.1	475	----------	526	----------	529	ESNWGFAFDI	533	WGQGTMVTVSS	523
11H4.1	471	-----ND---------	527	----------	529	ESNWGFAFDI	533	WGQGTMVTVSS	523
8A3.1	459	S----------	501	---------R----------	530	DLVLMVYDIDYYYYGMDV	502	WGQGTTVTVSS	524
11F1.1	463	S----------	501	--A---------F----------	531	DLVLMVYDIDYYYYGMDV	502	WGQGTTVTVSS	524
8A1.2	483	S------R---------	528	------T----------	532	PLVLMVYALHYYYYGMDV	534	WGHGTTVTVSS	525
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	488	VIWYDGSNKYYADSVKG	535	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	537				
12H11.1	467	--Y---I--H-------	536	----------	537	DRGLD	538	WGQGTLVTVSS	539

Fig. 31I

	SEQ ID NO:			FR1	SEQ ID NO:	CDR1	SEQ ID NO:	FR2	SEQ ID NO:
		Dòng mầm	Dòng mầm						
	489	VK2|A19		DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	540	RSSQSLLHSNGYNYLD	503	WYLQKPGQSPQLLIY	541
8A1.2	485	VK2|A19	JK4	----------	540	----------	503	----------	541
8A3.1	461	VK2|A19	JK4	----------	540	----------	503	----------	541
11F1.1	465	VK2|A19	JK4	----------	540	----------	503	----------	541
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1		CDR1		FR2	
	490	VK4|B3		DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	542	KSSQSVLYSSNNKNYLA	543	WYQQKPGQPPKLLIY	545
12H11.1	469	VK4|B3	JK1	----------	542	----------S---V	544	----------	545
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1		CDR1		FR2	
	491	VL1|1c		QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	546	SGSSSNIGSNTVN	547	WYQQLPGTAPKLLIY	549
11H4.1	473	VL1|1c	JL3b	----------	546	----------K---	548	----F----------	550
11H8.1	477	VL1|1c	JL3b	----------	546	----------K---	548	----F----------	550
		Dòng mầm	Dòng mầm	FR1		CDR1		FR2	
	492	VL3|3h		SYVLTQPPSVSVAPGKTARITC	551	GGNNIGSKSVH	553	WYQQKPGQAPVLVIY	554
11G1.5	481	VL3|3h	JL2	----------Q------	552	----------	553	----------V-	555

Fig. 3JJ



	SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:		SEQ ID NO:
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	489	LGSNRAS	504	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	556				
8A1.2	485	-------	504	----------	556	MQALQTPLT	558	FGGGTKVEIK	559
8A3.1	461	-------	504	----------	556	MQALQTPLT	558	FGGGTKVEIK	559
11F1.1	465	-------	504	----------HL----------	567	MQTLQTPLT	505	FGGGTKVEIK	559
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	490	WASTRES	560	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	561				
12H11.1	469	-------	560	----------	561	QQYYSTPWT	562	FGQGTKVEIK	563
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	491	SNNQRPS	564	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYC	566				
11H4.1	473	---R---	565	----------	566	AAWDDSLNWV	567	FGAGTKLTVL	569
11H8.1	477	---R---	565	----------	566	ATWDDRLNWV	568	FGAGTKLTVL	569
		CDR2		FR3		CDR3		FR4	
	492	YDSDRPS	570	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC	572				
11G1.5	481	D------	571	----------F--	573	QVWDSSSDPVV	574	FGGGTKLTVL	575

Fig. 4A

10pM hoặc 100pM 16F 12 + (0,1pM ~ 10nM) hPCSK9

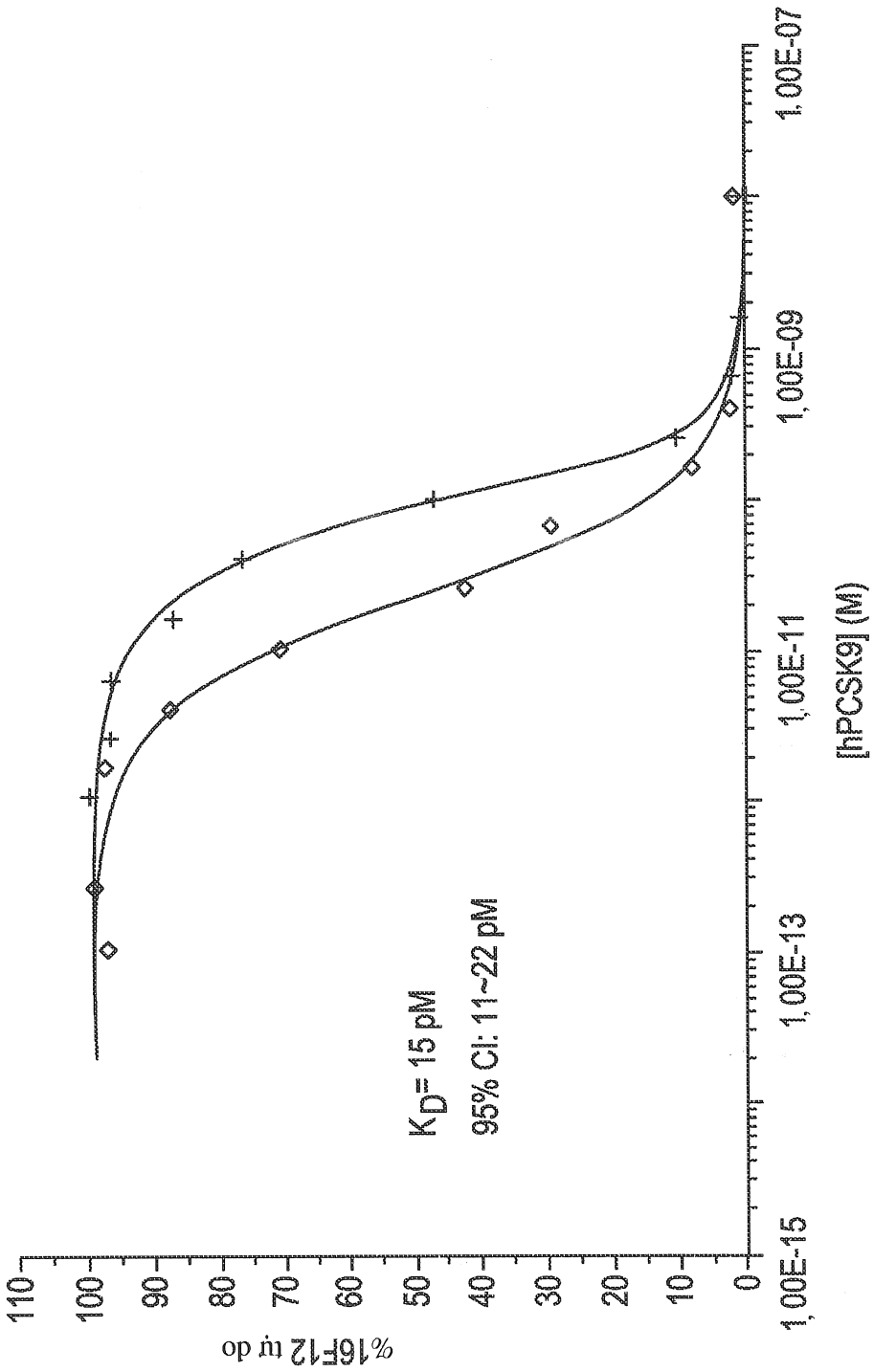


Fig. 4B

10pM hoặc 100pM 31H4 + (0,1pM ~ 10nM) hPCSK9

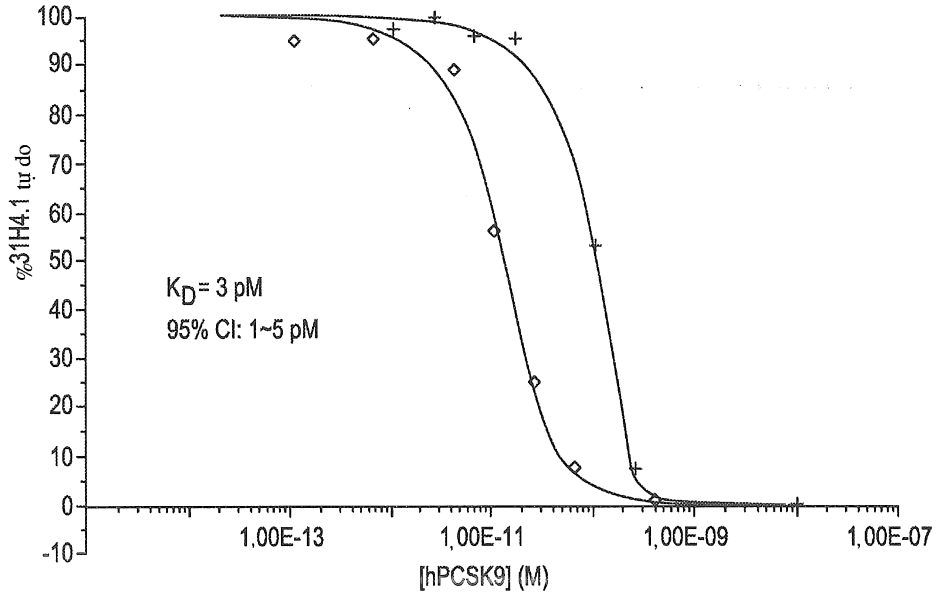


Fig. 4C

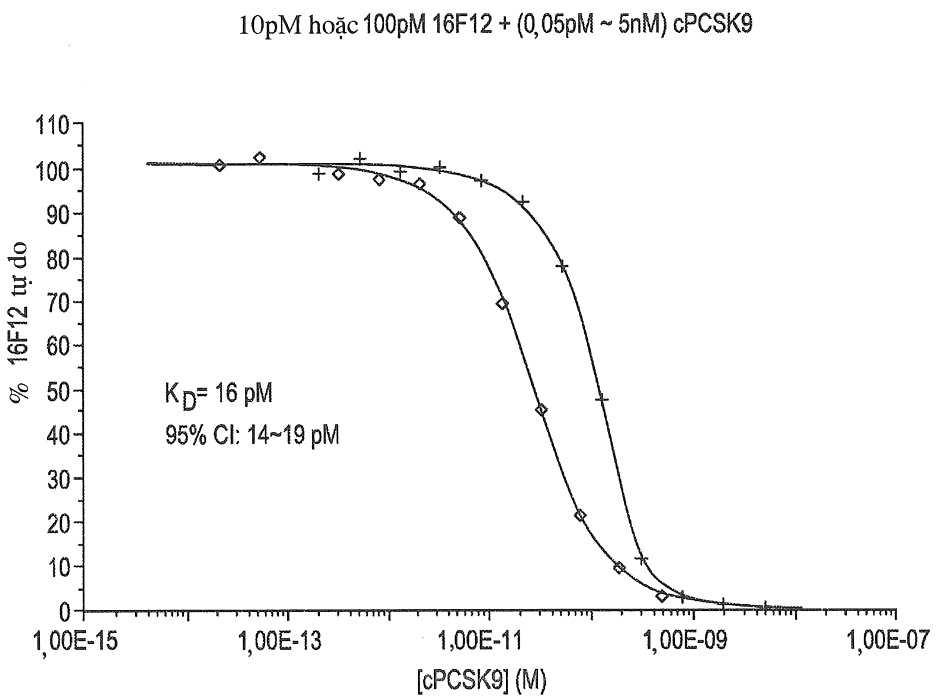

10pM hoặc 100pM 16F12 + (0,05pM ~ 5nM) cPCSK9
% 16F12 tự do
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
K_D= 16 pM
95% CI: 14~19 pM
1,00E-15
1,00E-13
1,00E-11
1,00E-09
1,00E-07
[cPCSK9] (M)

Fig. 4D

10pM hoặc 100pM 31H4 + (0,05pM ~ 5nM) cPCSK9

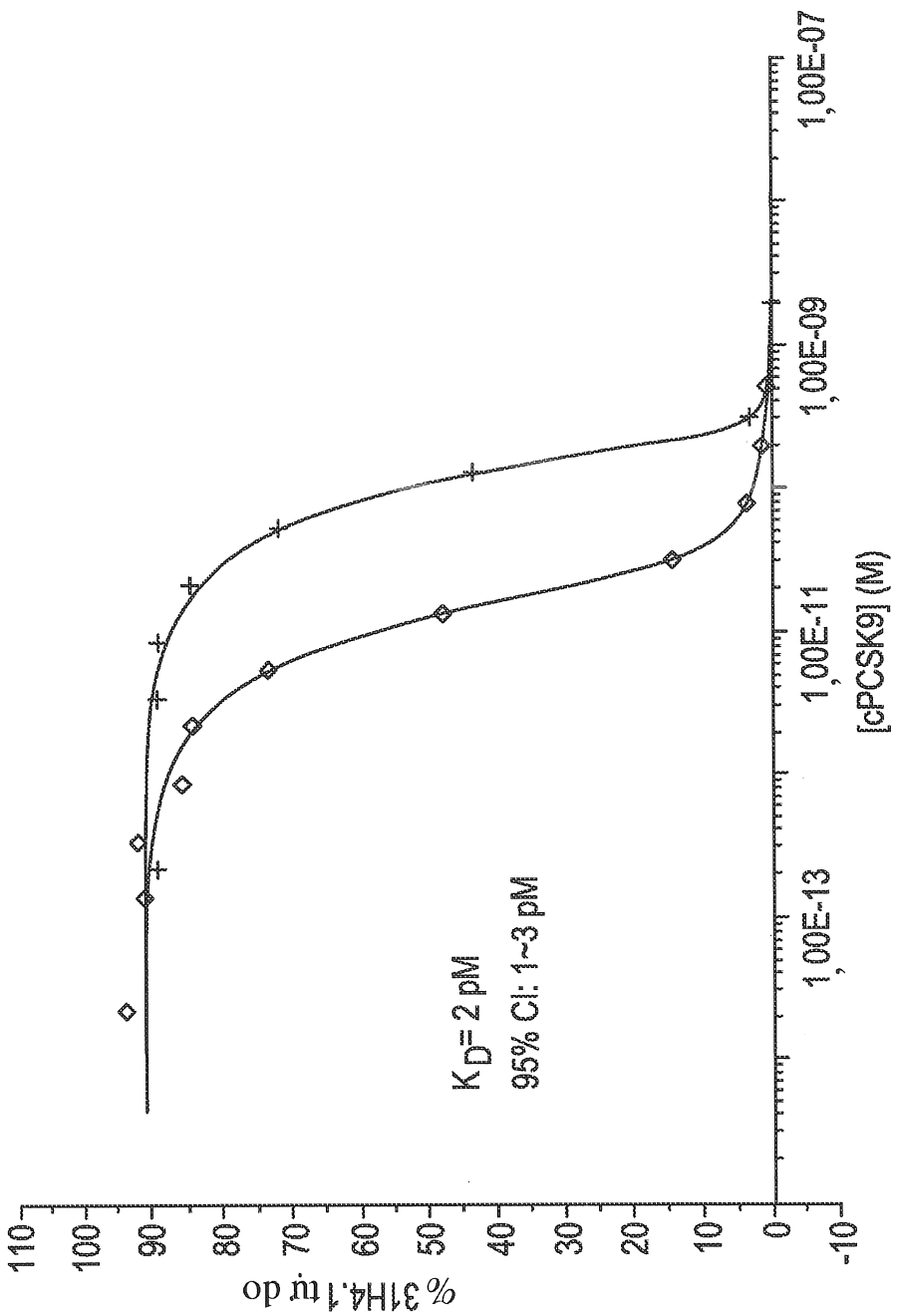


Fig. 4E

100pM 16F12 + (1pM ~ 10nM) mPCSK9

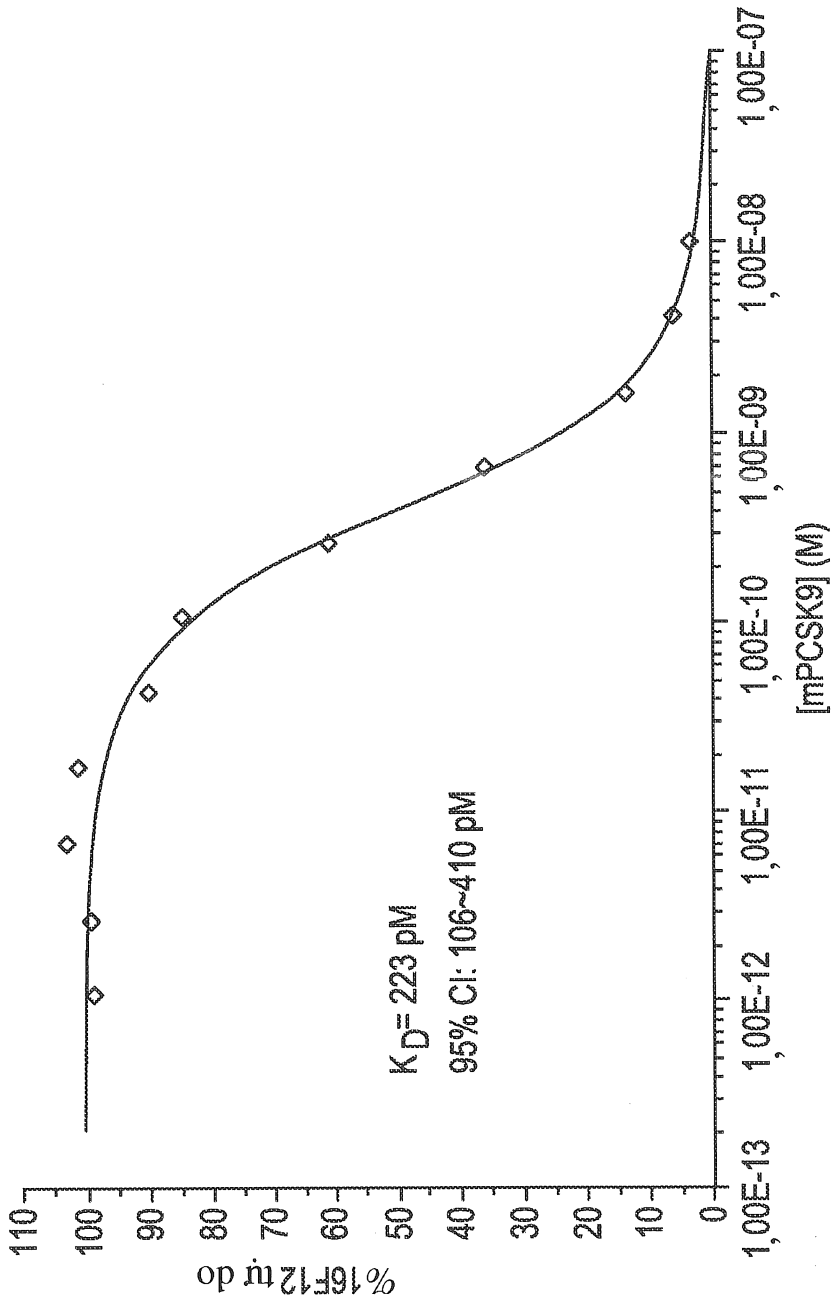


Fig. 4F

100pM 31H4 + (2,6pM ~ 25nM) mPCSK9

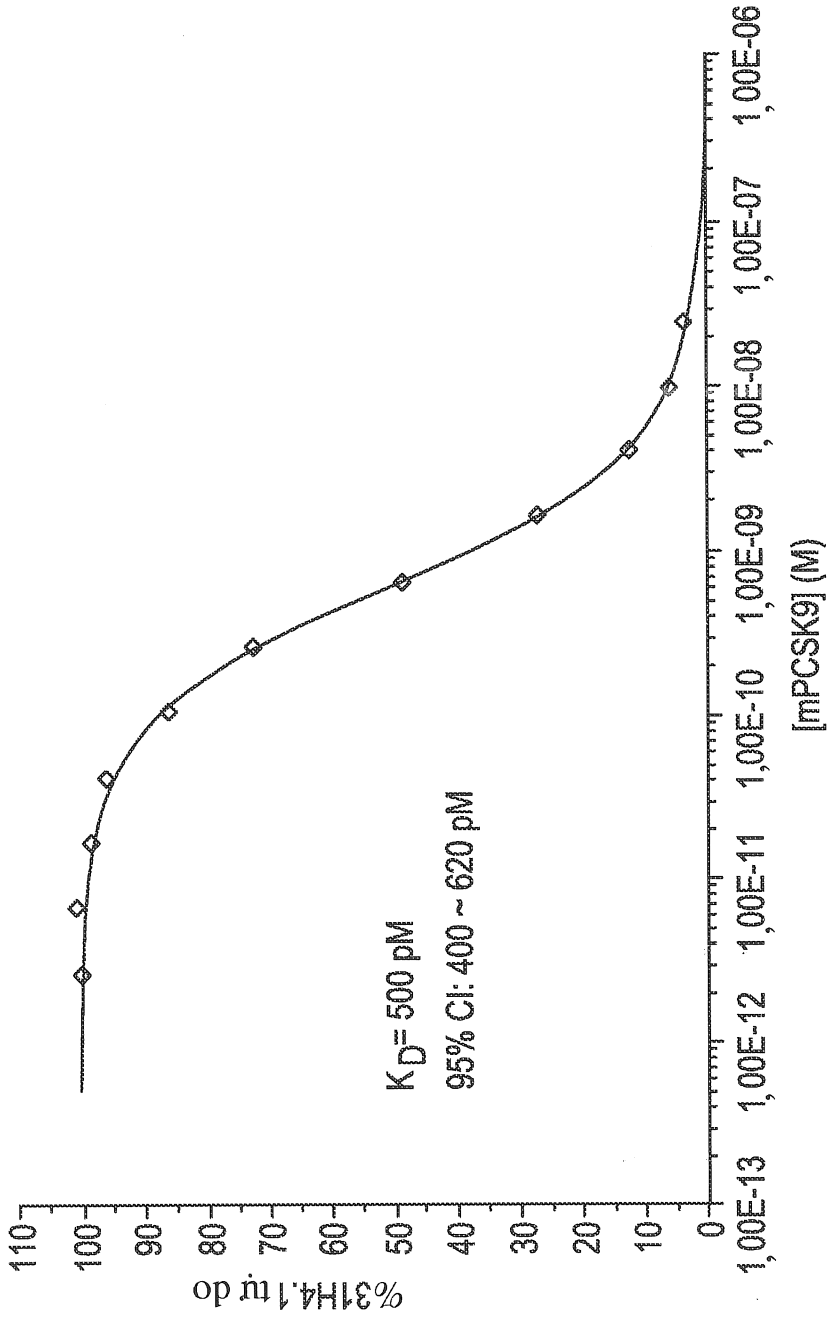


Fig. 5A

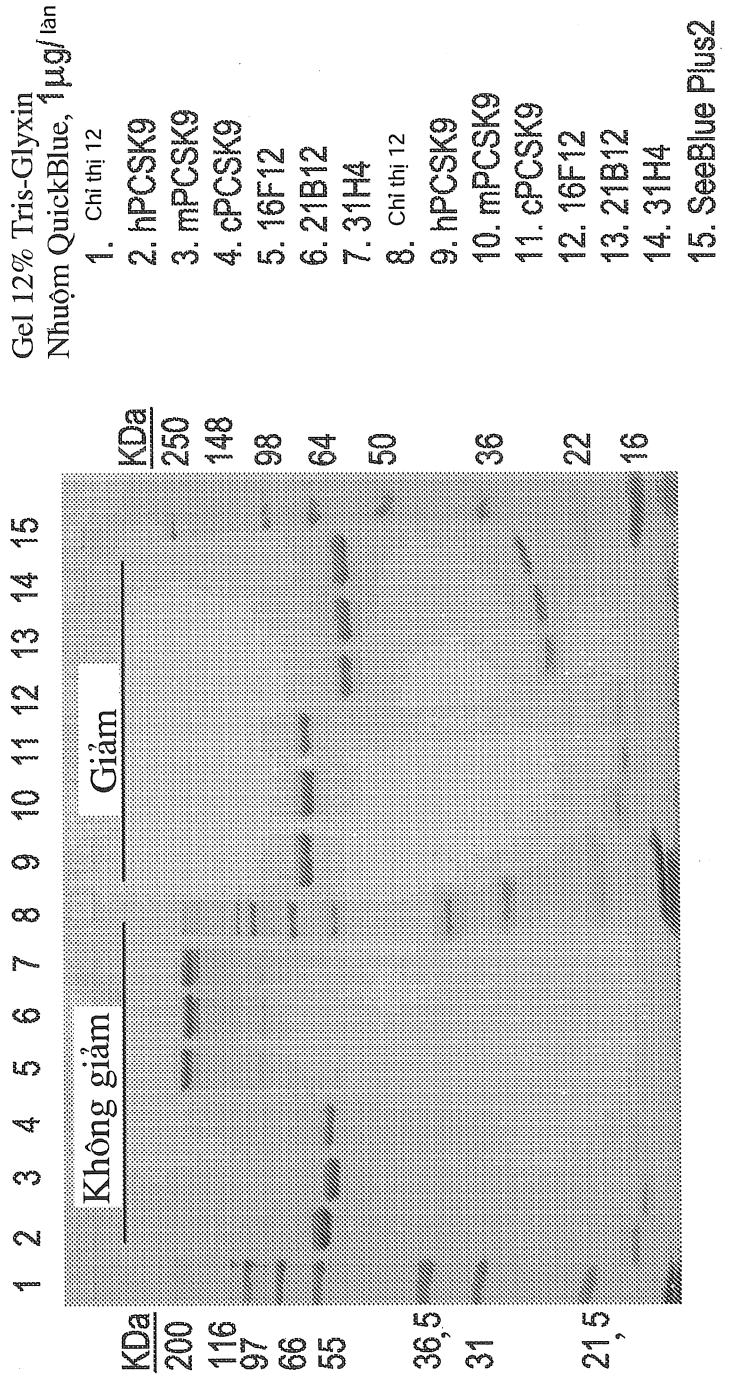

Gel 12% Tris-Glyxin
Nhuộm QuickBlue, 1µg/lan
1. Chỉ thị 12
2. hPCSK9
3. mPCSK9
4. cPCSK9
5. 16F12
6. 21B12
7. 31H4
8. Chỉ thị 12
9. hPCSK9
10. mPCSK9
11. cPCSK9
12. 16F12
13. 21B12
14. 31H4
15. SeeBlue Plus2
Không giảm
Giảm
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
KDa
200
116
97
66
55
36,5
31
21,5
KDa
250
148
98
64
50
36
22
16

Fig. 5B

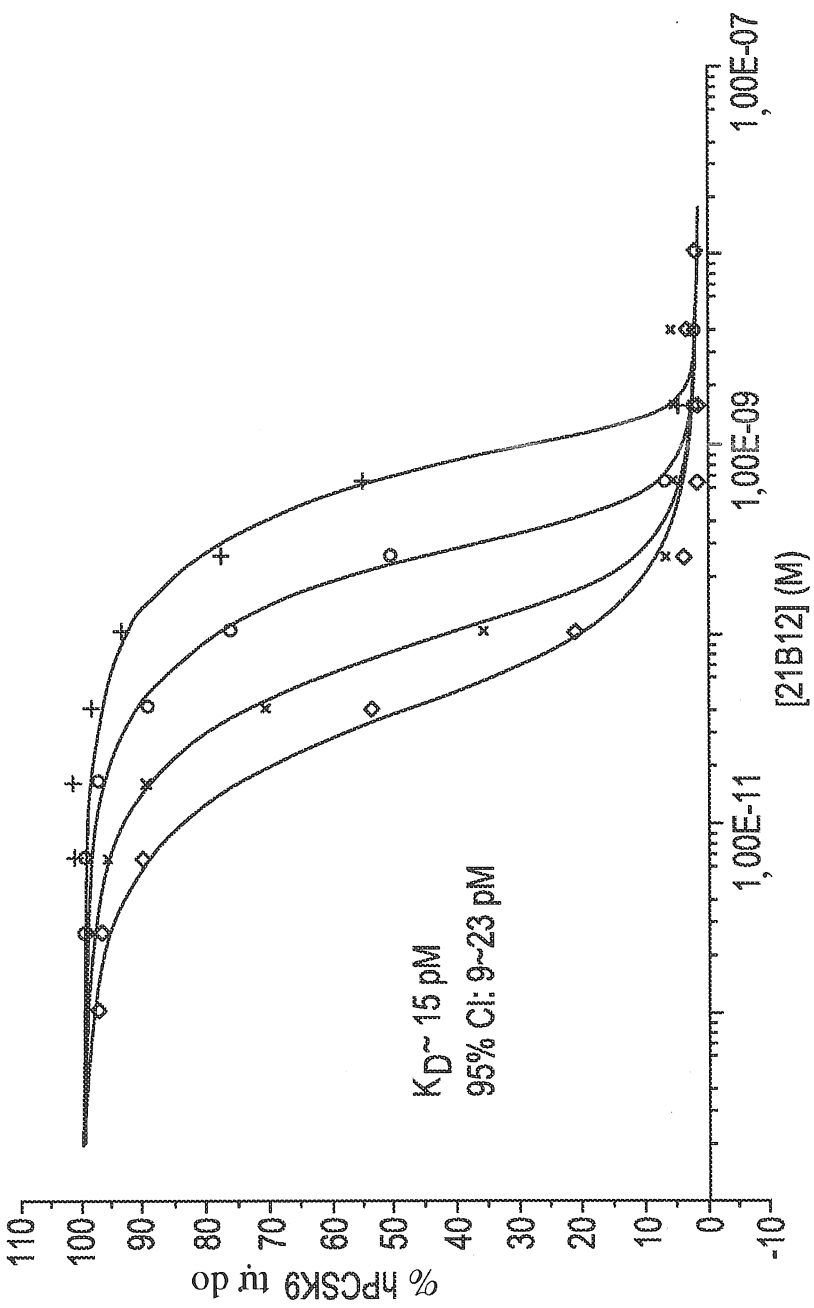

0,1/0,3/1/3nM hPCSK9 + (1pM ~ 25nM) 21B12
% hPCSK9 unbound
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
1,00E-11
1,00E-09
1,00E-07
[21B12] (M)
KD~ 15 pM
95% CI: 9~23 pM

Fig. 5C

0,1/0,3/1/3nM cPCSK9 + (1pM ~ 25nM) 21B12

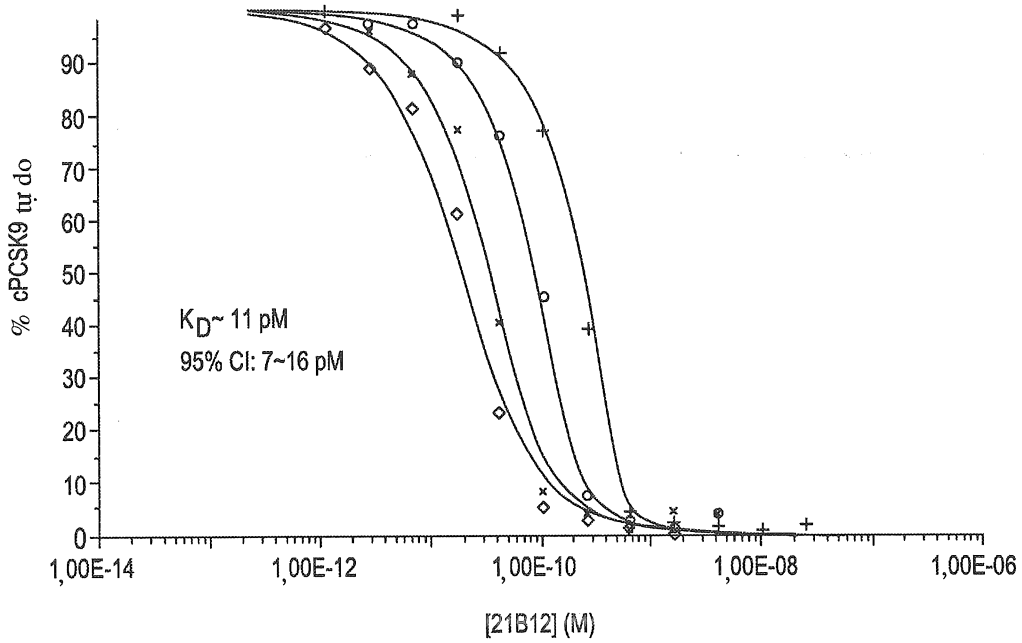


Fig. 5D

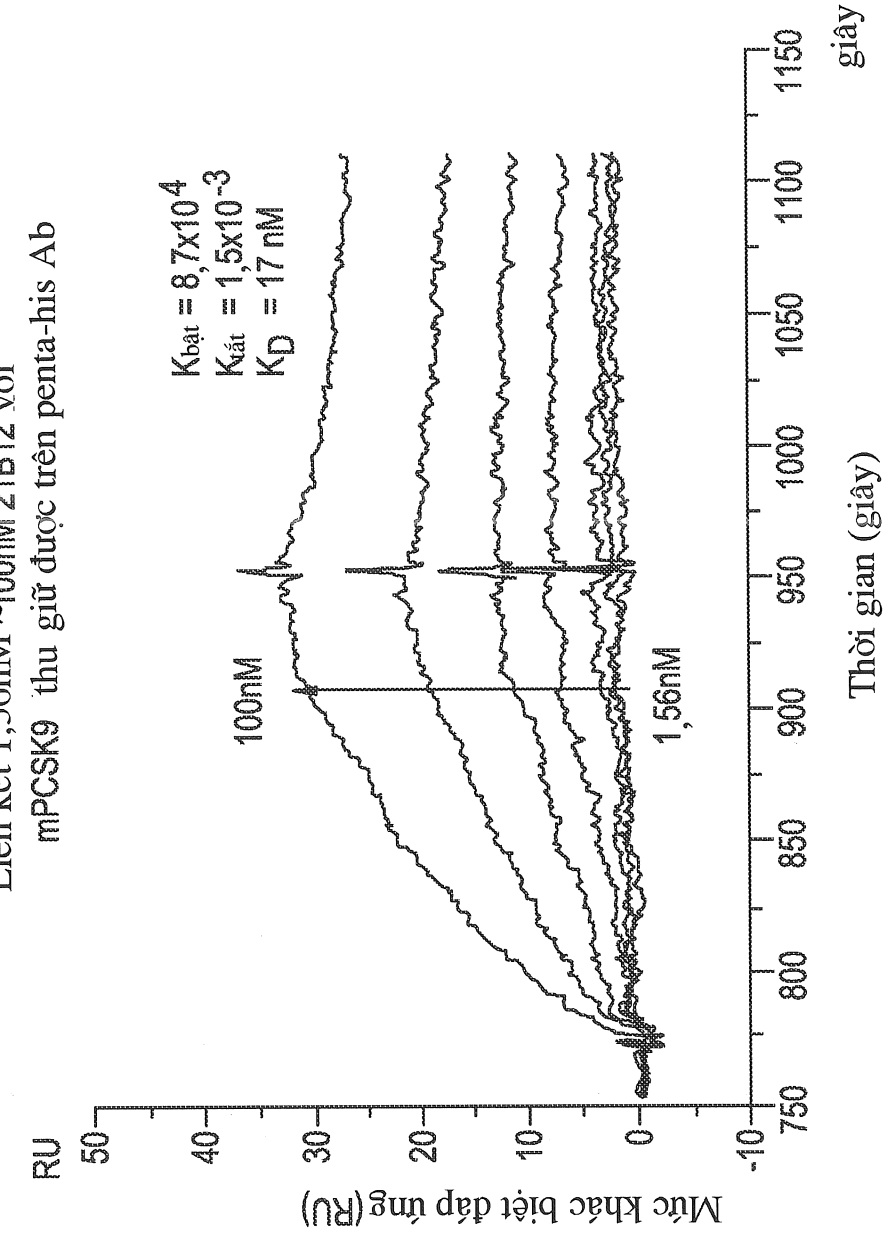

Liên kết 1,56nM ~100nM 21B12 với
mPCSK9 thu giữ được trên penta-his Ab
$K_{bật}$ = 8,7x10^{4}
$K_{tắt}$ = 1,5x10^{-3}
K_D = 17 nM
100nM
1,56nM
RU
50
40
30
20
10
0
-10
750
800
850
900
950
1000
1050
1100
1150
giây
Thời gian (giây)
Mức khác biệt đáp ứng (RU)

Fig.5E

Liên kết biểu vị của kháng thể Abs kháng PCSK9 trên hPCSK9

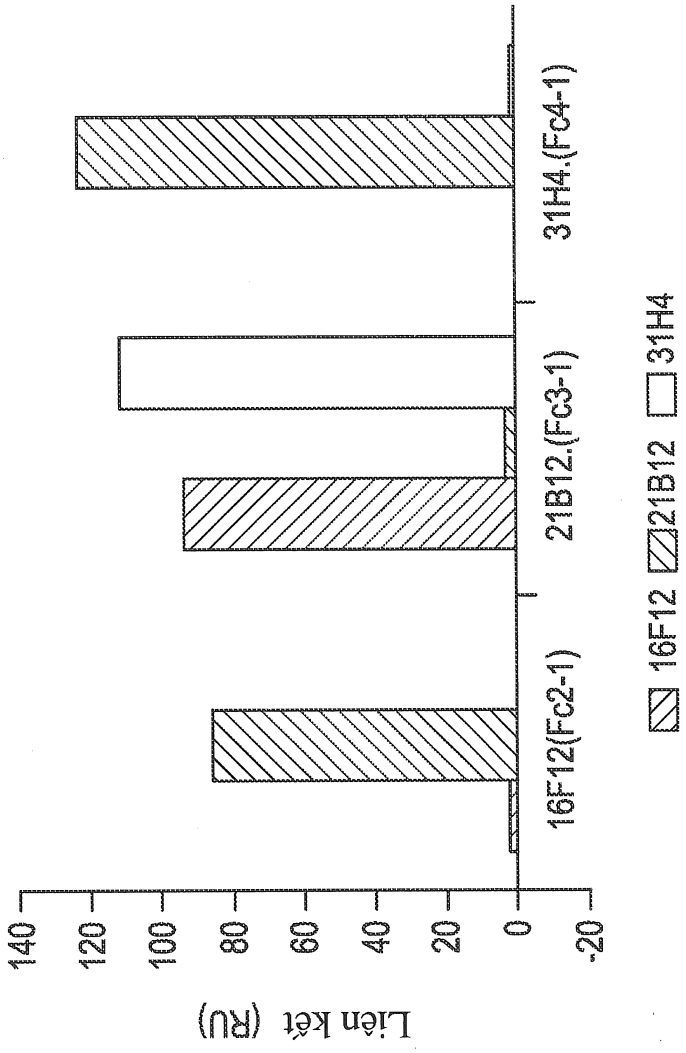


Fig. 6A

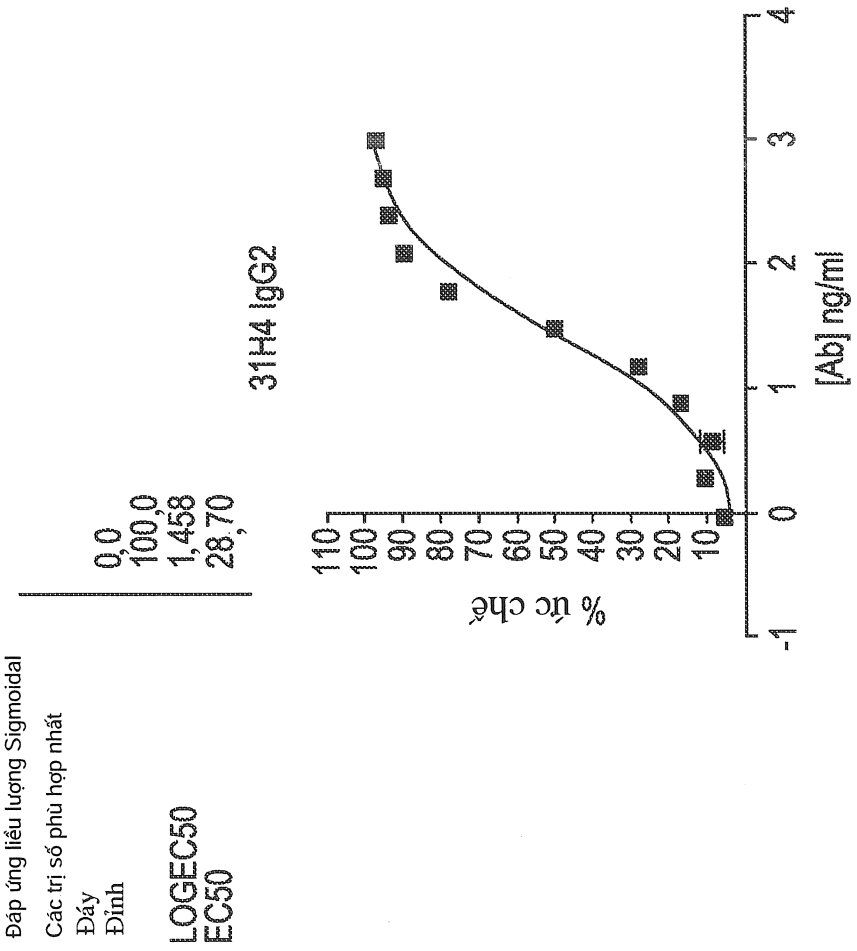

Đáp ứng liều lượng Sigmoidal
Các trị số phù hợp nhất
Đáy
Đỉnh
LOGEC50
EC50
0,0
100,0
1,458
28,70
31H4 IgG2
% ức chế
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
-1
0
1
2
3
4
[Ab] ng/ml

Fig.6B

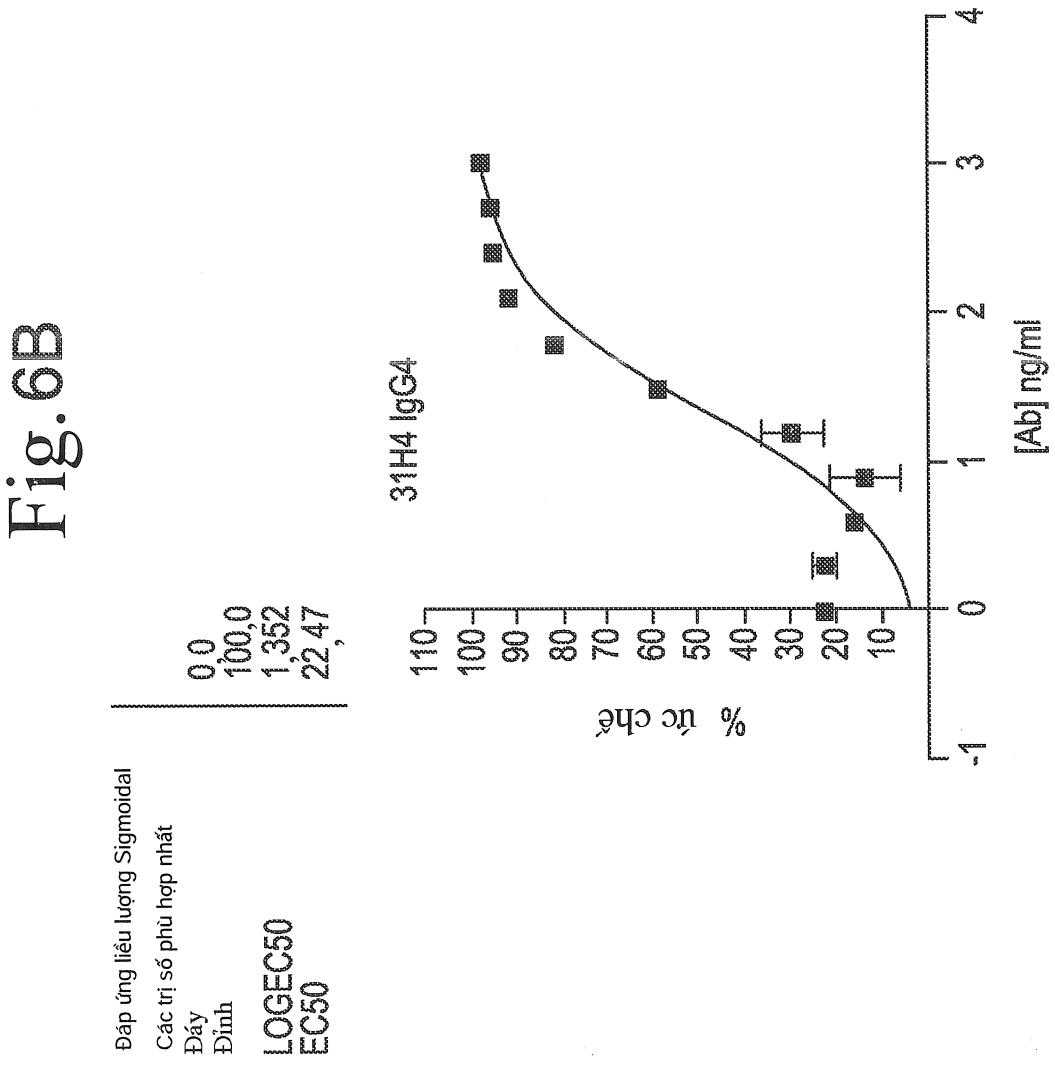

Đáp ứng liều lượng Sigmoidal
Các trị số phù hợp nhất
Đáy 0,0
Đỉnh 100,0
LOGEC50 1,352
EC50 22,47
31H4 IgG4
% ức chế
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
-1
0
1
2
3
4
[Ab] ng/ml

Fig. 6C

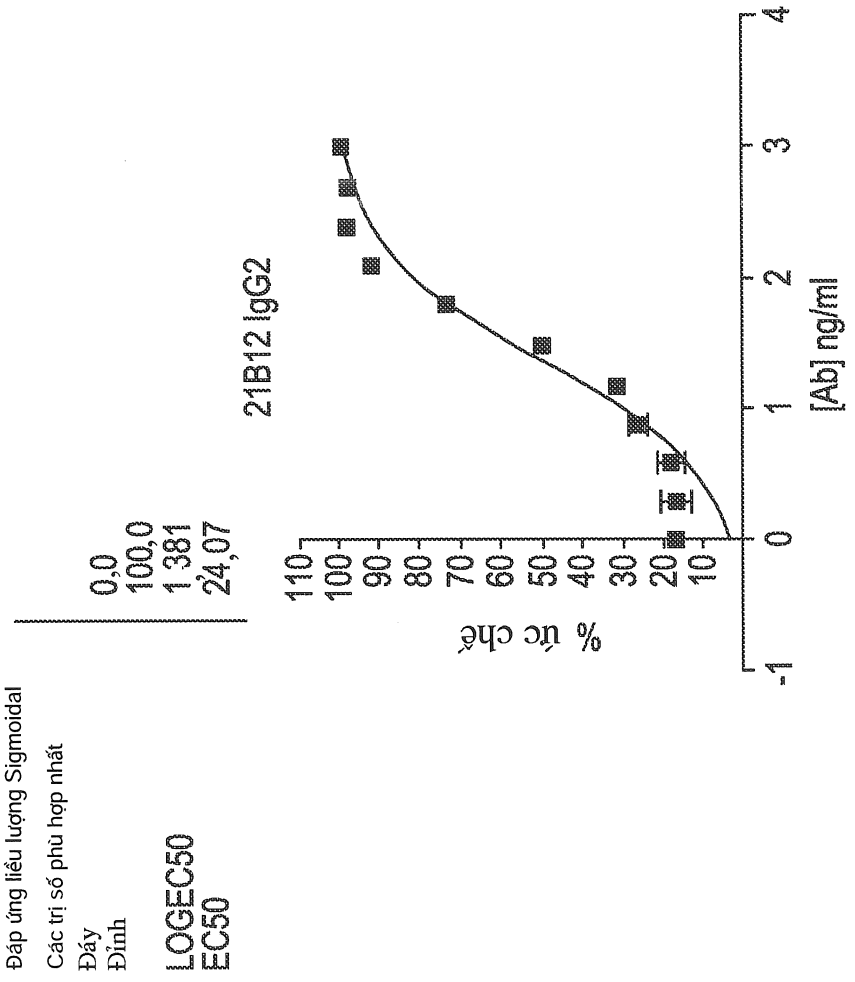

Đáp ứng liều lượng Sigmoidal
Các trị số phù hợp nhất
Đáy
Đỉnh
LOGEC50
EC50
0,0
100,0
1,381
24,07
21B12 IgG2
% ức chế
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
-1
0
1
2
3
4
[Ab] ng/ml

Fig. 6D

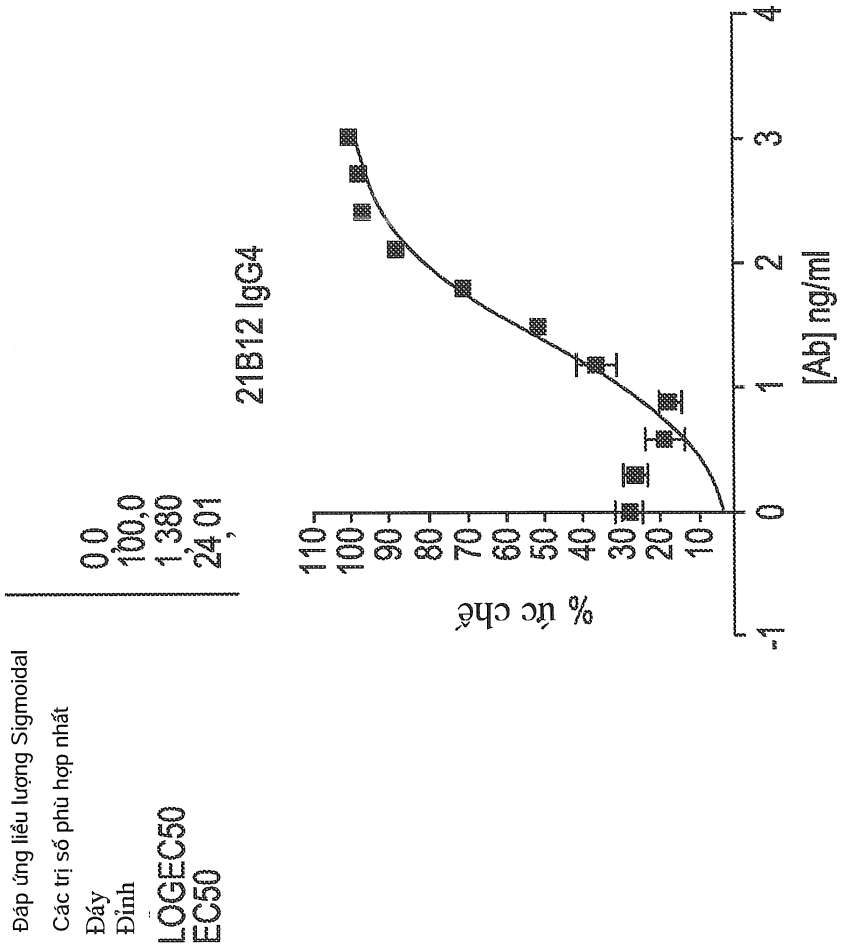

Đáp ứng liều lượng Sigmoidal
Các trị số phù hợp nhất
Đáy 0,0
Đỉnh 100,0
LOGEC50 1,380
EC50 24,01
21B12 IgG4
% ức chế
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
-1
0
1
2
3
4
[Ab] ng/ml

Fig. 7A

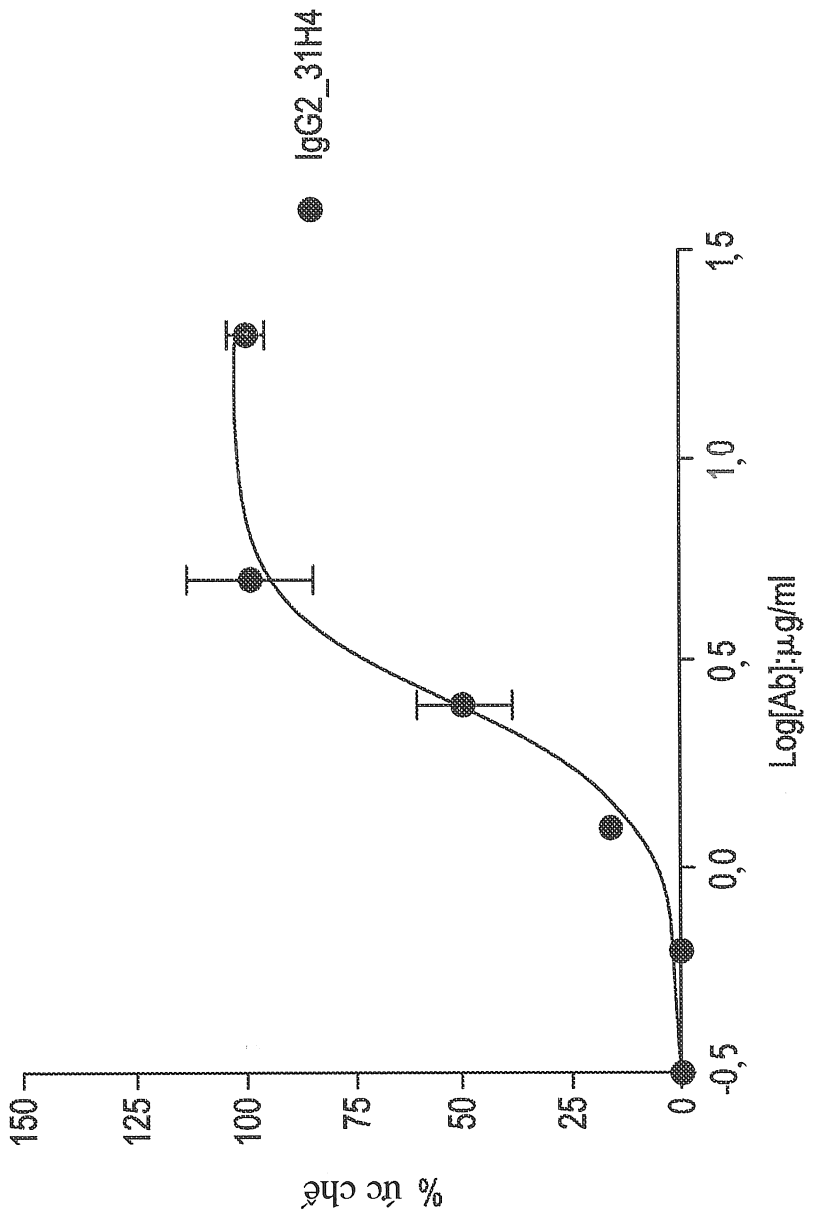


Fig. 7B

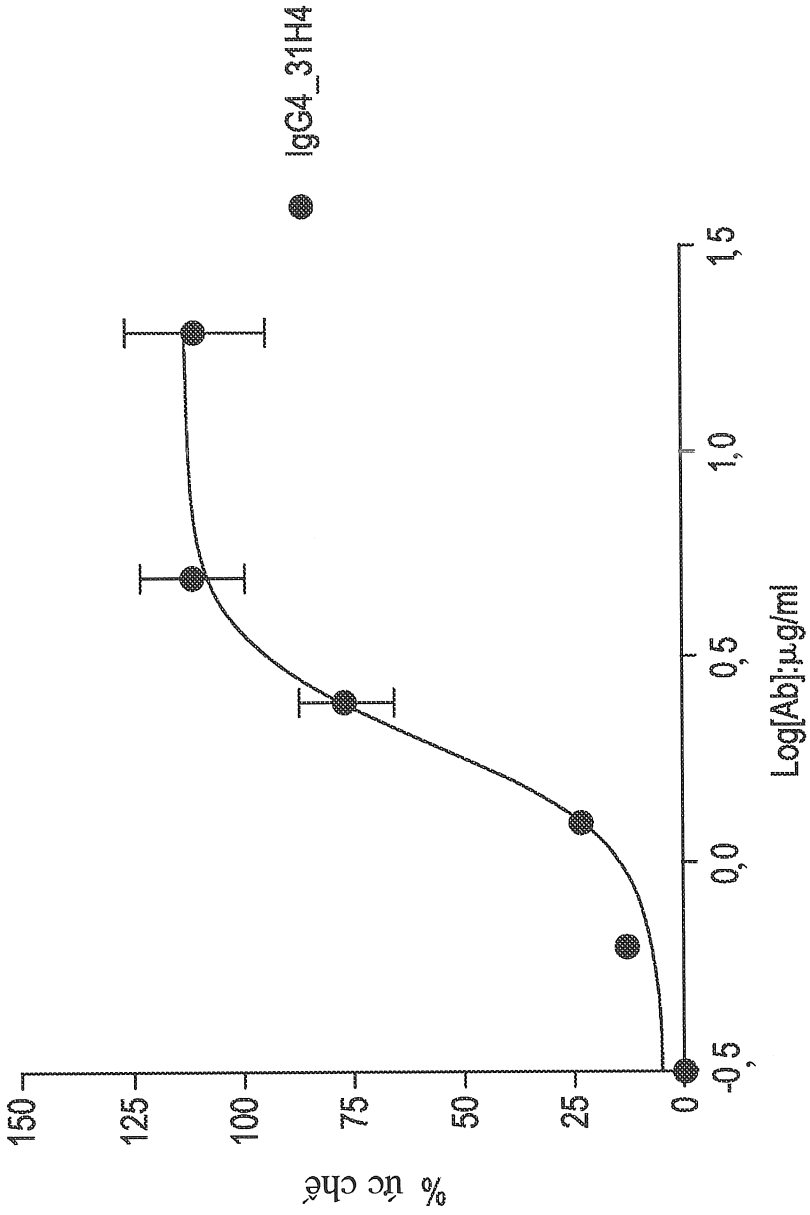


Fig. 7C

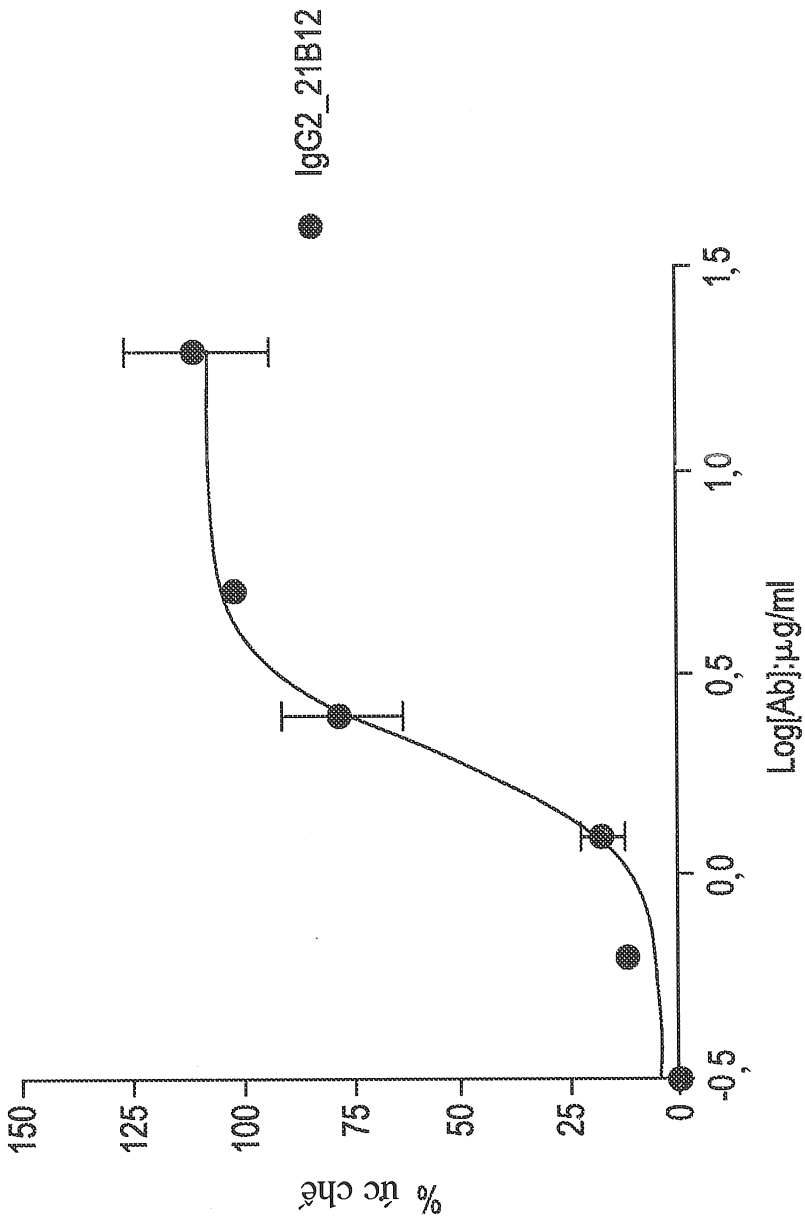


Fig. 7D

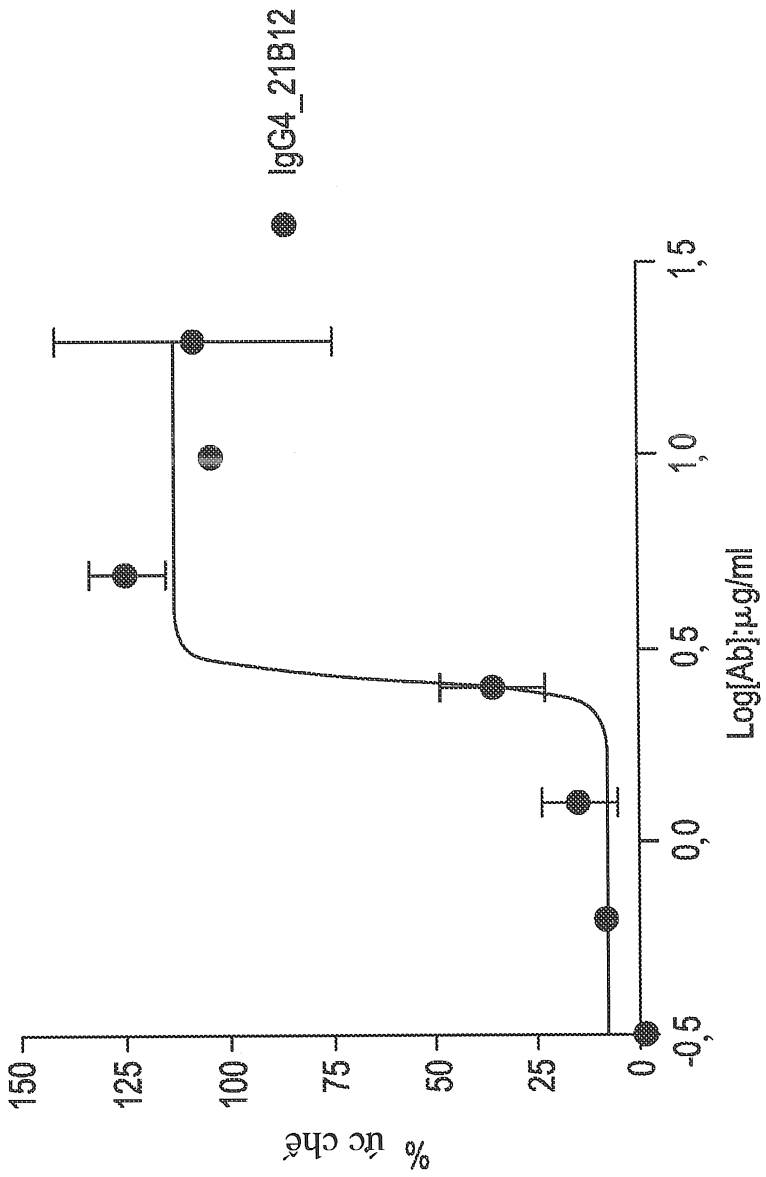

IgG4_21B12
% tế bào chết
150
125
100
75
50
25
0
-0,5
0,0
0,5
1,0
1,5
Log[Ab]:µg/ml

Fig. 8B

Cholesterol tổng

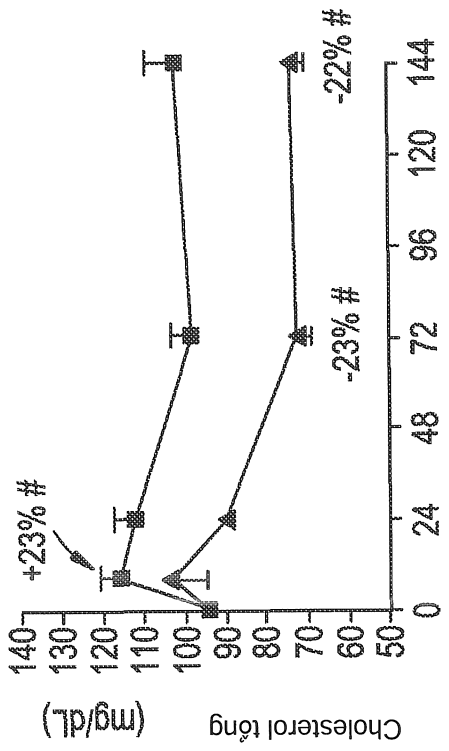


Fig. 8A

Cholesterol tổng

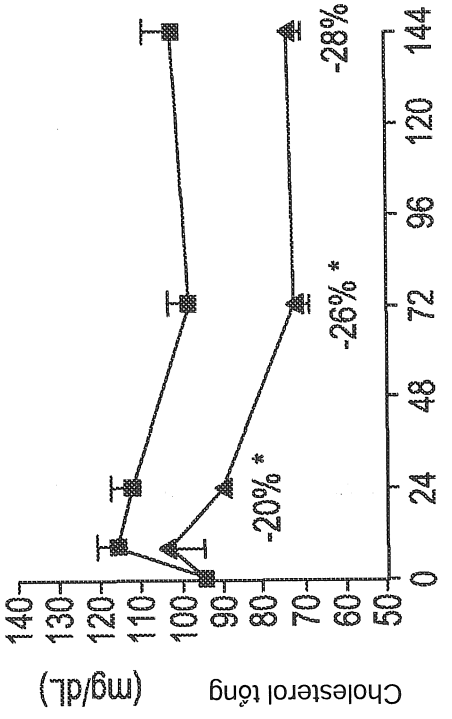


Fig. 8D

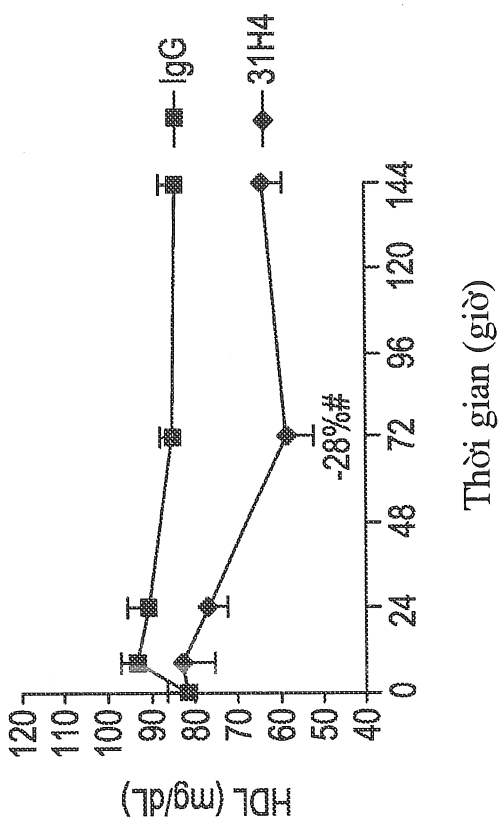

HDL
IgG
31H4
-28%#
HDL (mg/dL)
120
110
100
90
80
70
60
50
40
0
24
48
72
96
120
144
Thời gian (giờ)

Fig. 8C

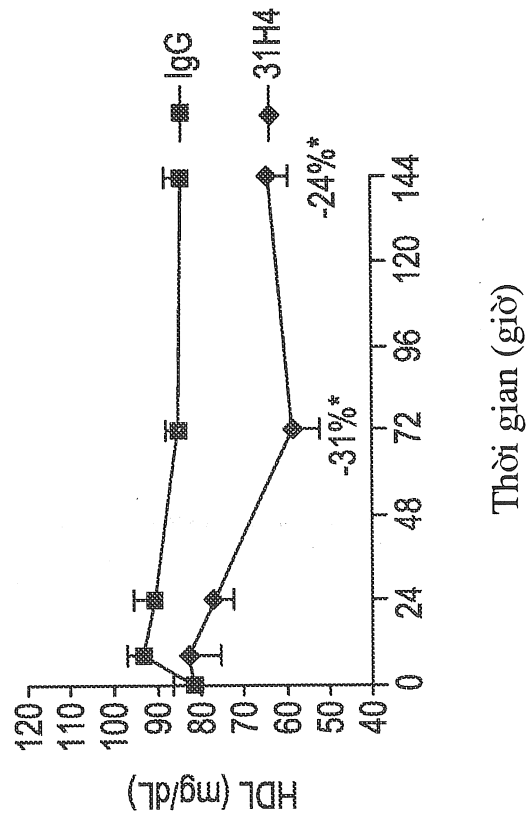

HDL
IgG
31H4
-24%*
-31%*
HDL (mg/dL)
120
110
100
90
80
70
60
50
40
0
24
48
72
96
120
144
Thời gian (giờ)

Fig. 9

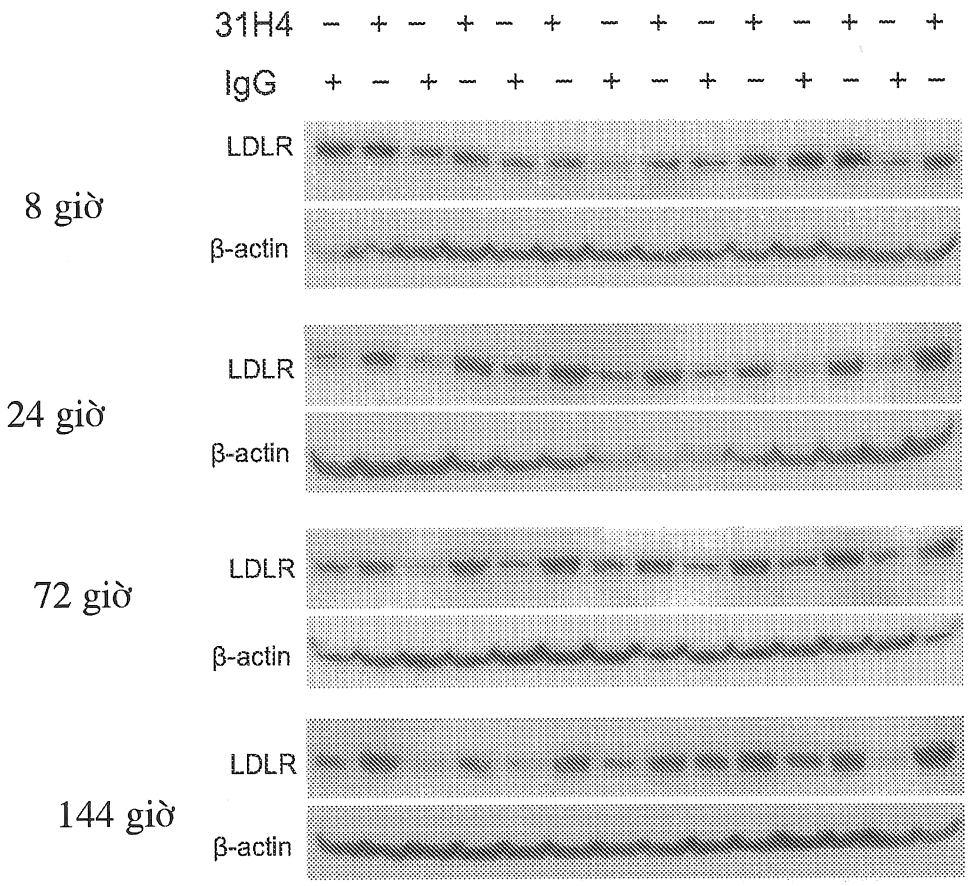

31H4 − + − + − + − + − + − + − +
IgG + − + − + − + − + − + − + −
LDLR
8 giờ
β-actin
LDLR
24 giờ
β-actin
LDLR
72 giờ
β-actin
LDLR
144 giờ
β-actin

Fig.10B
HDL

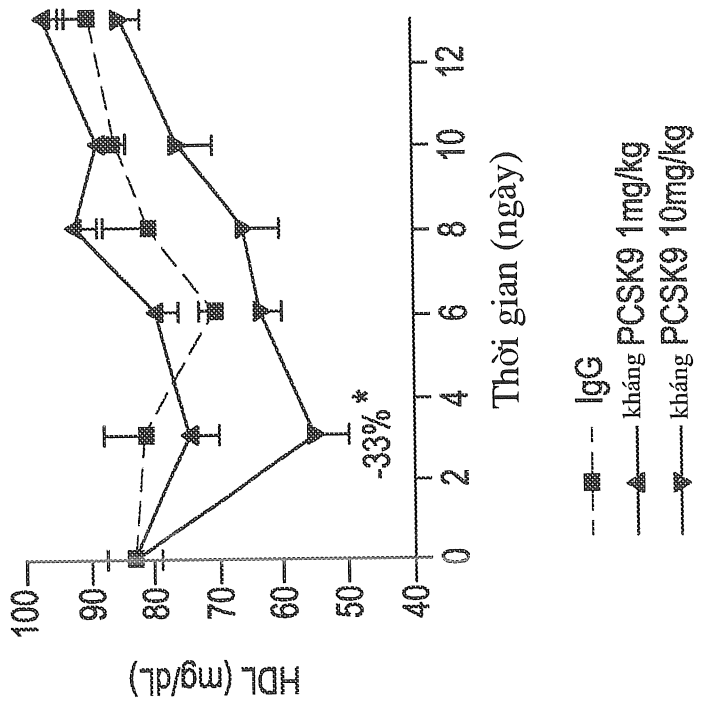


Fig.10A
Cholesterol tổng

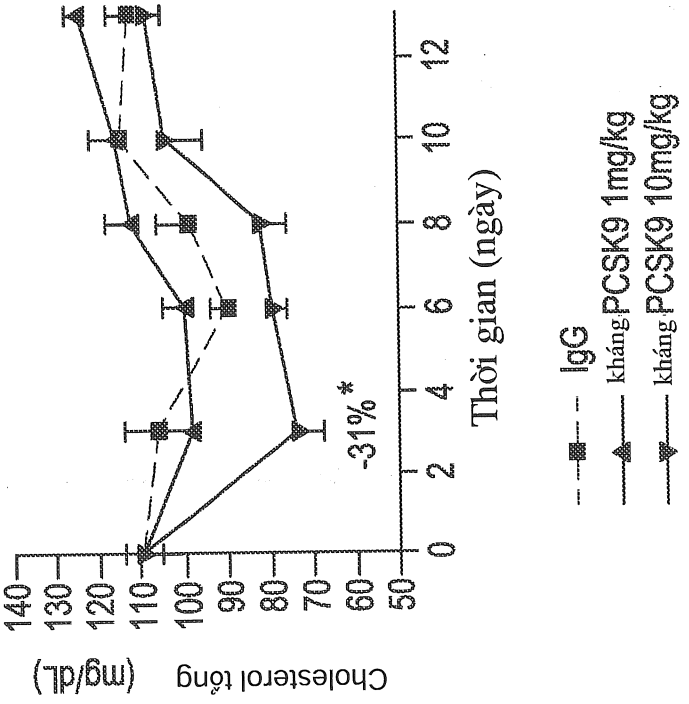


Fig. 10C

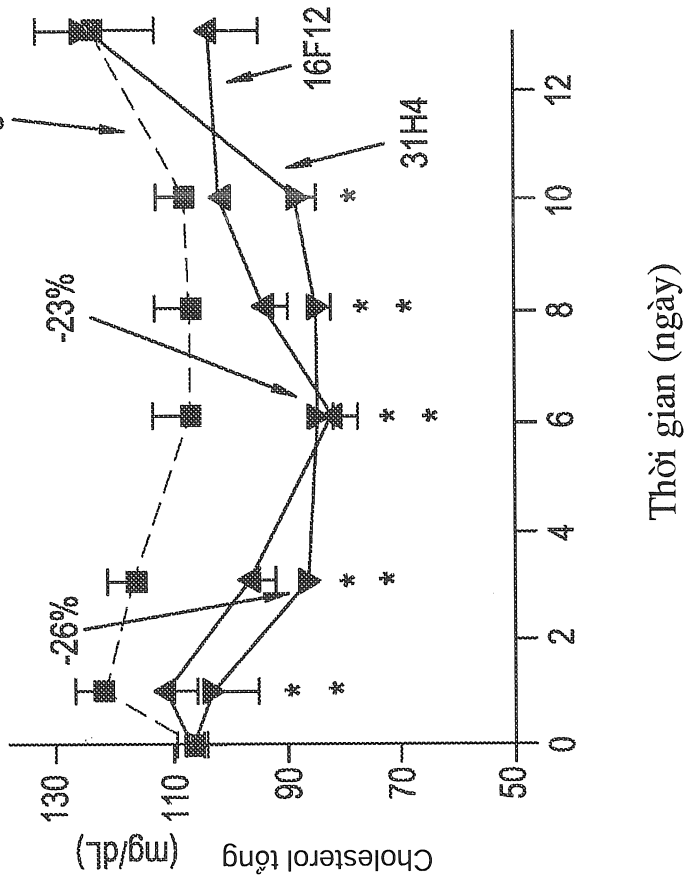

IgG
16F12
31H4
-23%
-26%
Cholesterol tổng (mg/dL)
130
110
90
70
50
0
2
4
6
8
10
12
Thời gian (ngày)

Fig. 11A

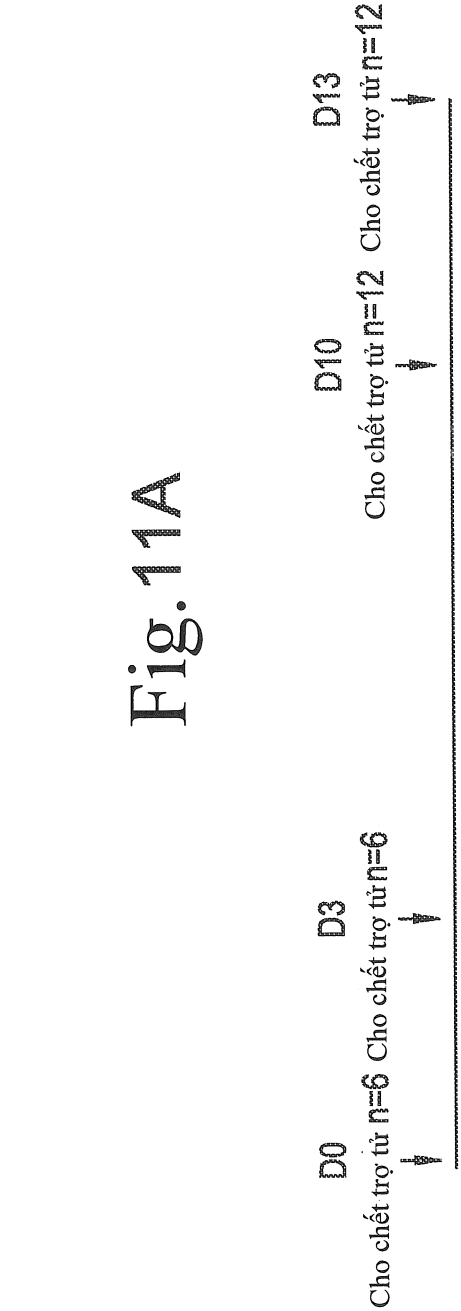

D0
D3
D10
D13
Cho chết trợ từ n=6
Cho chết trợ từ n=6
Cho chết trợ từ n=12
Cho chết trợ từ n=12
Liều 31H4 10mg/kg (vào tất cả các con chuột nhắt)
Liều 31H4 hoặc IgG 10mg/kg
Liều 31H4 hoặc IgG 10mg/kg

Fig.11B

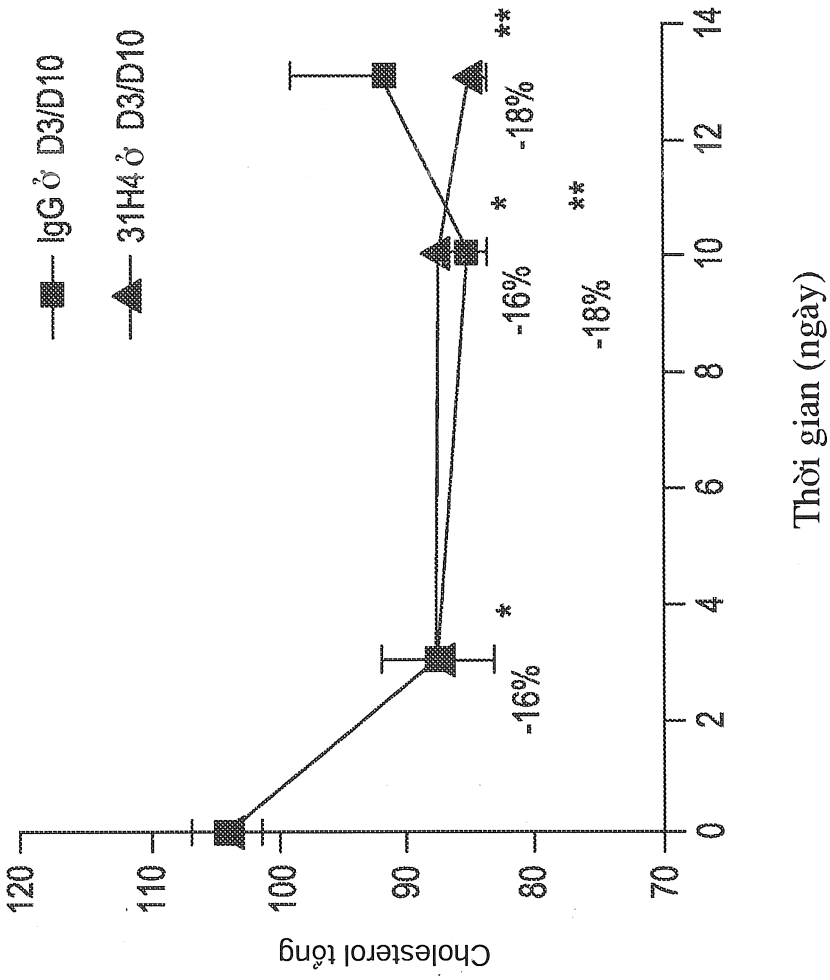

IgG ở D3/D10
31H4 ở D3/D10
Cholesterol tổng
Thời gian (ngày)
120
110
100
90
80
70
0
2
4
6
8
10
12
14
-16%
*
-16%
*
-18%
**
-18%
**

Fig. 12A

21B12

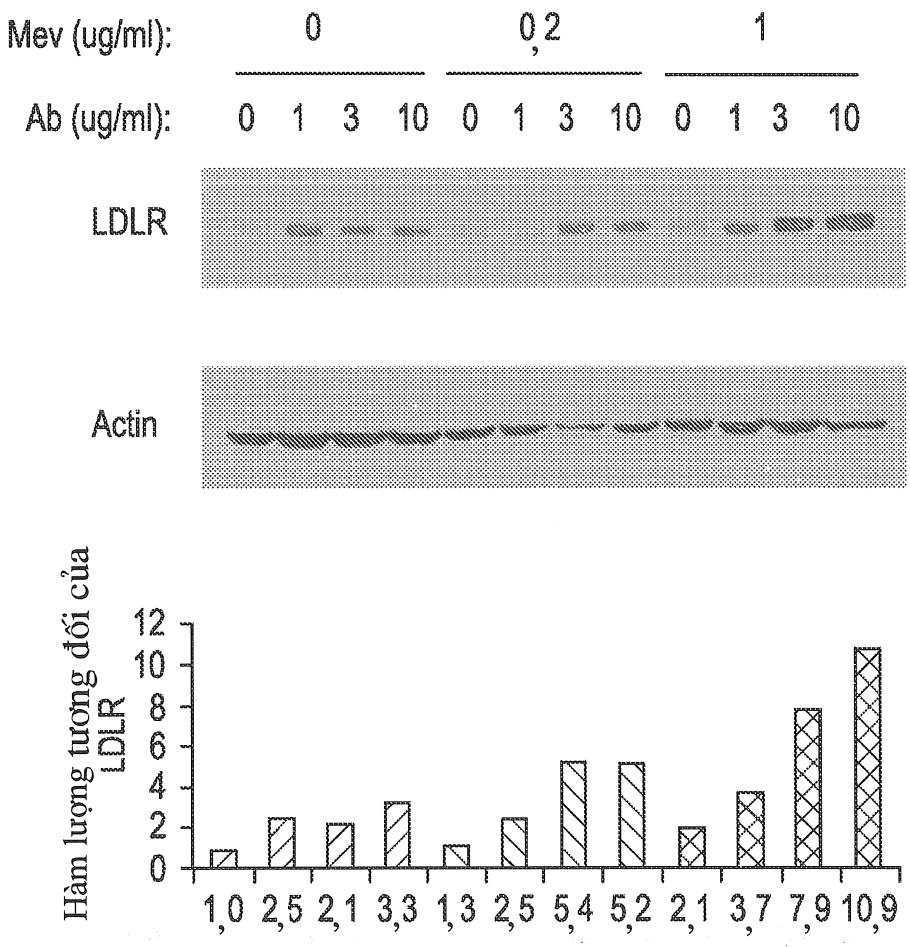


Fig. 12B

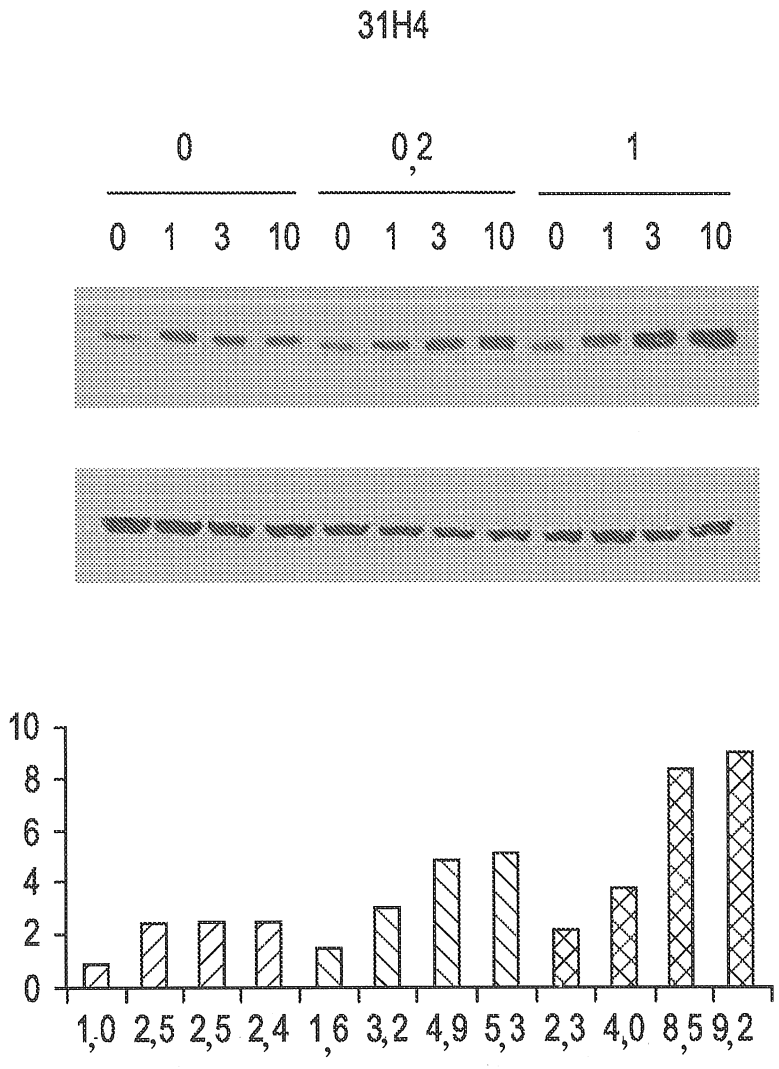

31H4
0
0,2
1
0 1 3 10 0 1 3 10 0 1 3 10
10
8
6
4
2
0
1,0 2,5 2,5 2,4 1,6 3,2 4,9 5,3 2,3 4,0 8,5 9,2

Fig. 12C

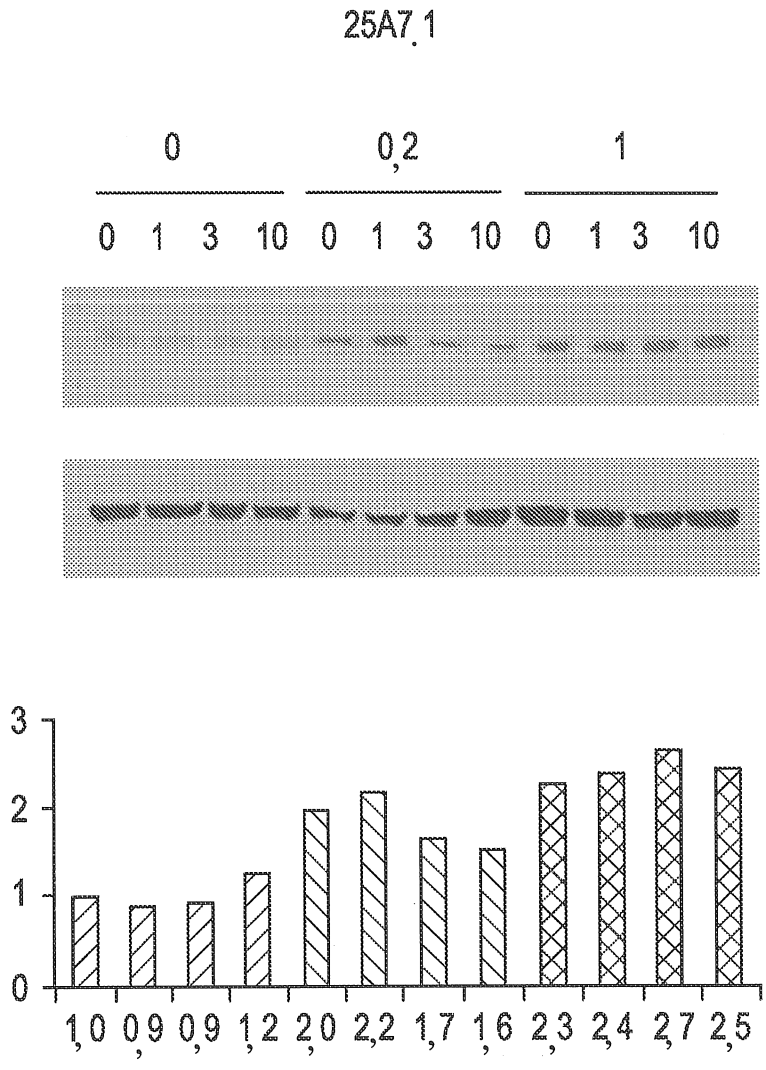

25A7.1
0
0,2
1
0 1 3 10 0 1 3 10 0 1 3 10
3
2
1
0
1,0 0,9 0,9 1,2 2,0 2,2 1,7 1,6 2,3 2,4 2,7 2,5

Fig. 12D

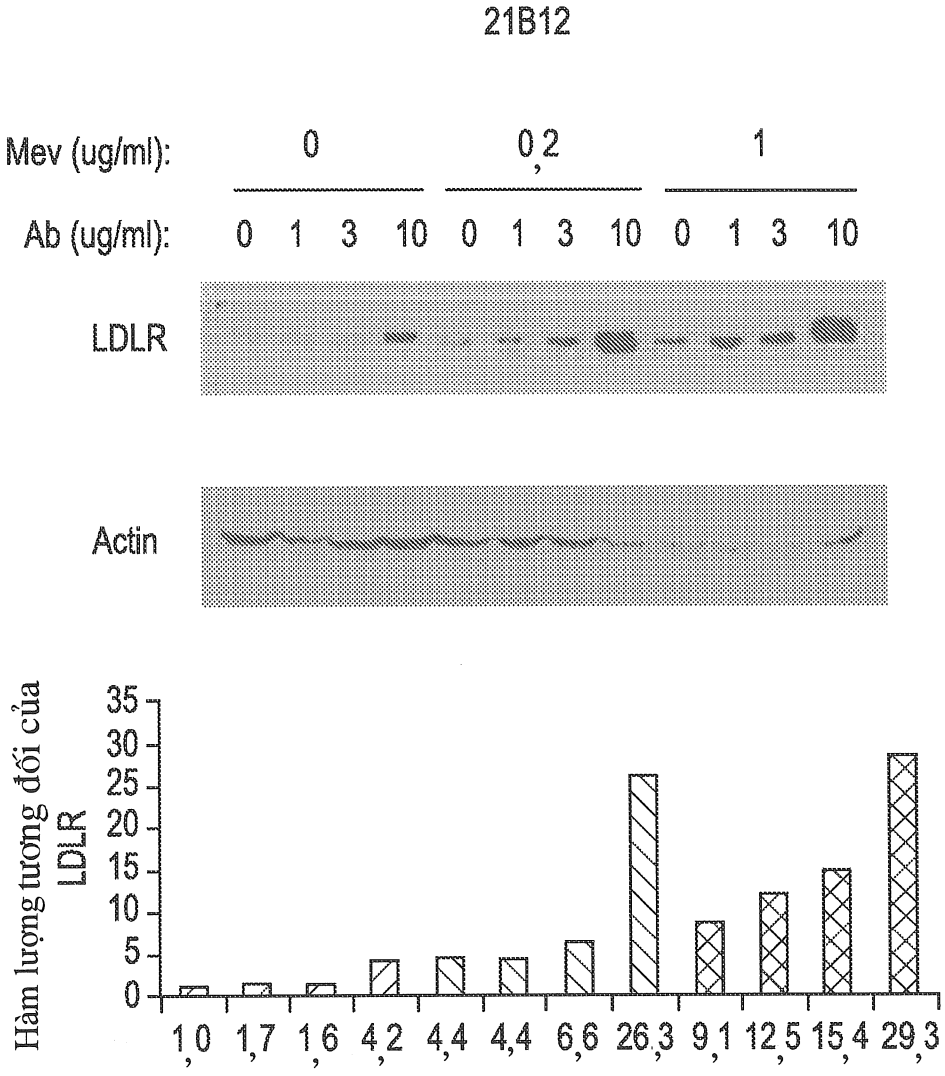

21B12
Mev (ug/ml):
0
0,2
1
Ab (ug/ml):
0 1 3 10 0 1 3 10 0 1 3 10
LDLR
Actin
Hàm lượng tương đối của LDLR
35
30
25
20
15
10
5
0
1,0 1,7 1,6 4,2 4,4 4,4 6,6 26,3 9,1 12,5 15,4 29,3

Fig. 12E

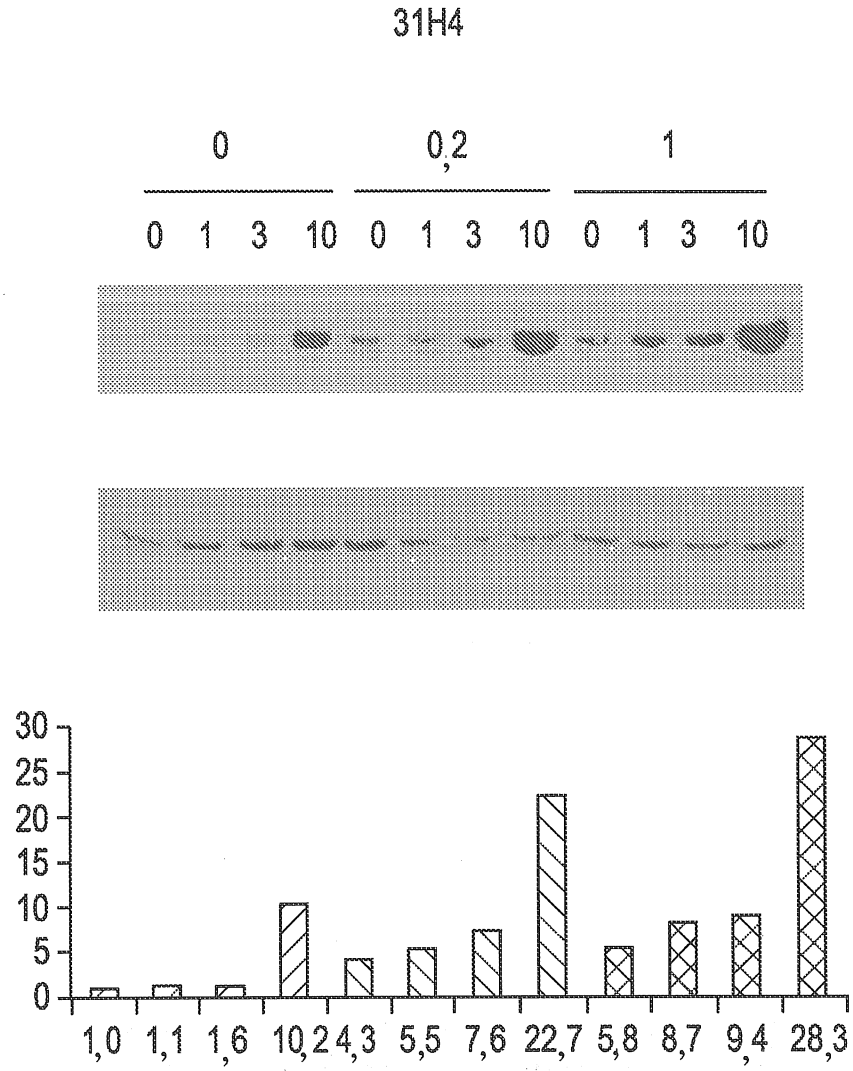

31H4
0
0,2
1
0 1 3 10 0 1 3 10 0 1 3 10
30
25
20
15
10
5
0
1,0 1,1 1,6 10,2 4,3 5,5 7,6 22,7 5,8 8,7 9,4 28,3

Fig. 12F

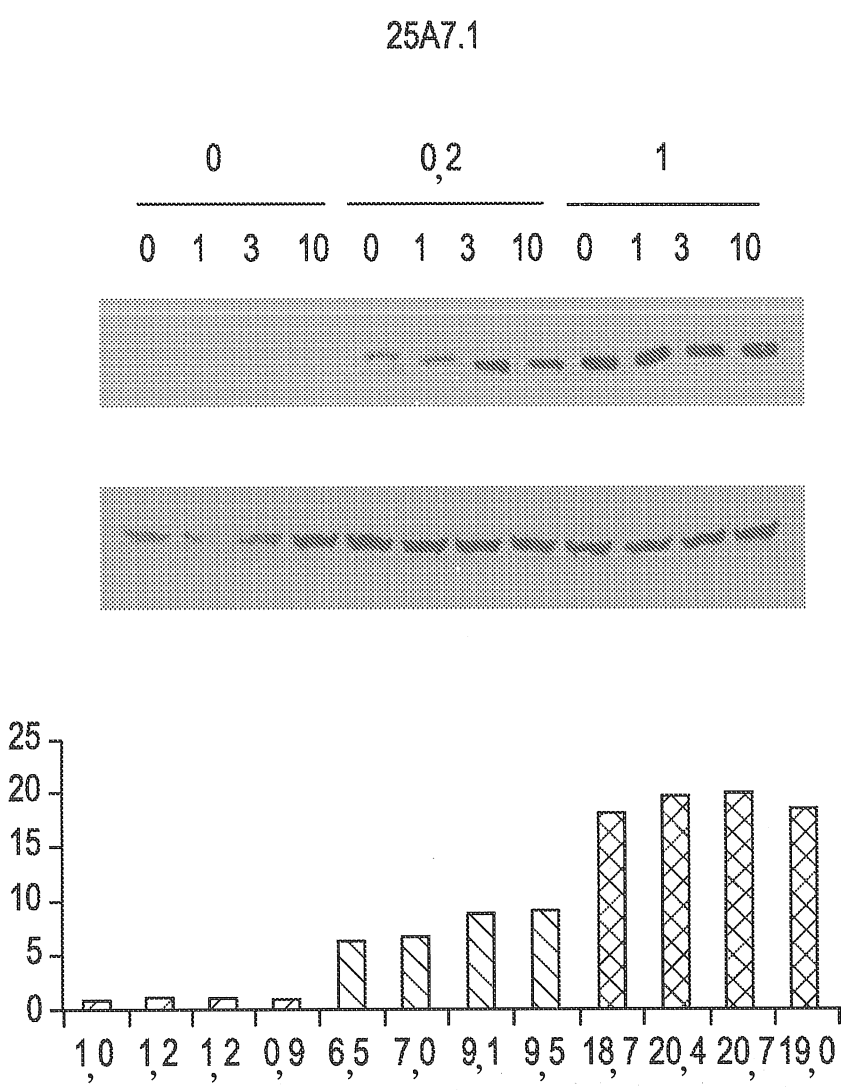
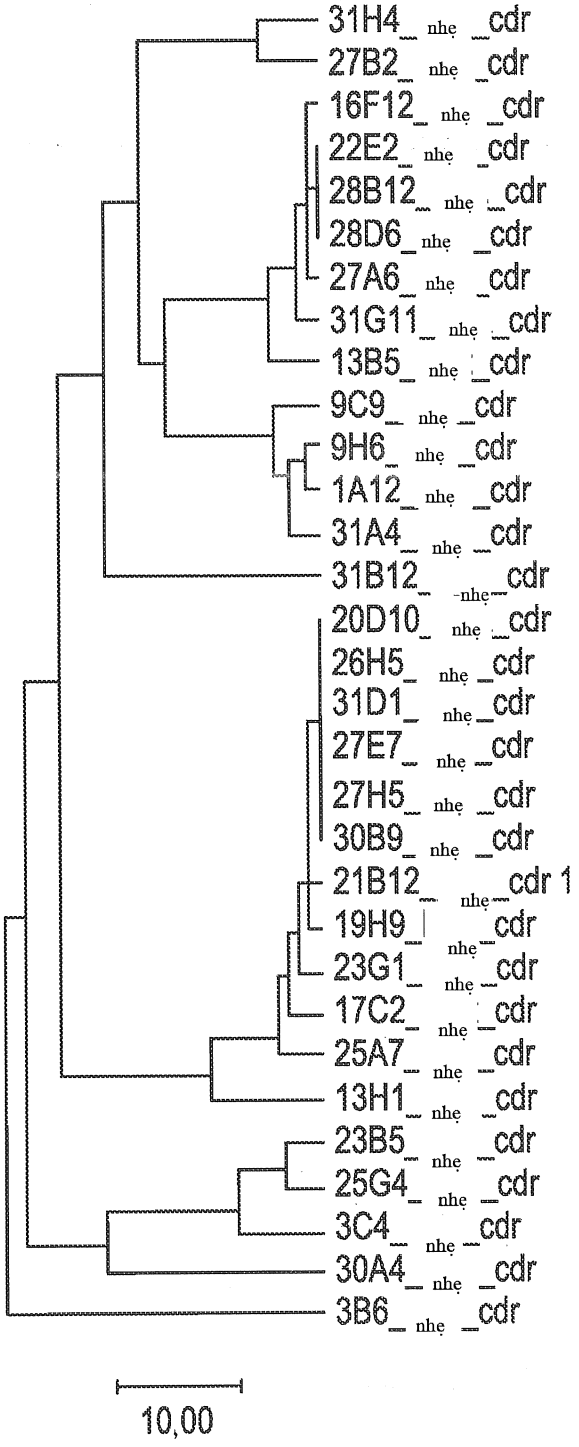

25A7.1
0
0,2
1
0 1 3 10 0 1 3 10 0 1 3 10
25
20
15
10
5
0
1,0 1,2 1,2 0,9 6,5 7,0 9,1 9,5 18,7 20,4 20,7 19,0

Fig. 13A

Chuỗi nhẹ:

Trình tự liên ứng

Fig. 13B



Gốc thay thế trên 100 gốc

Fig. 13C

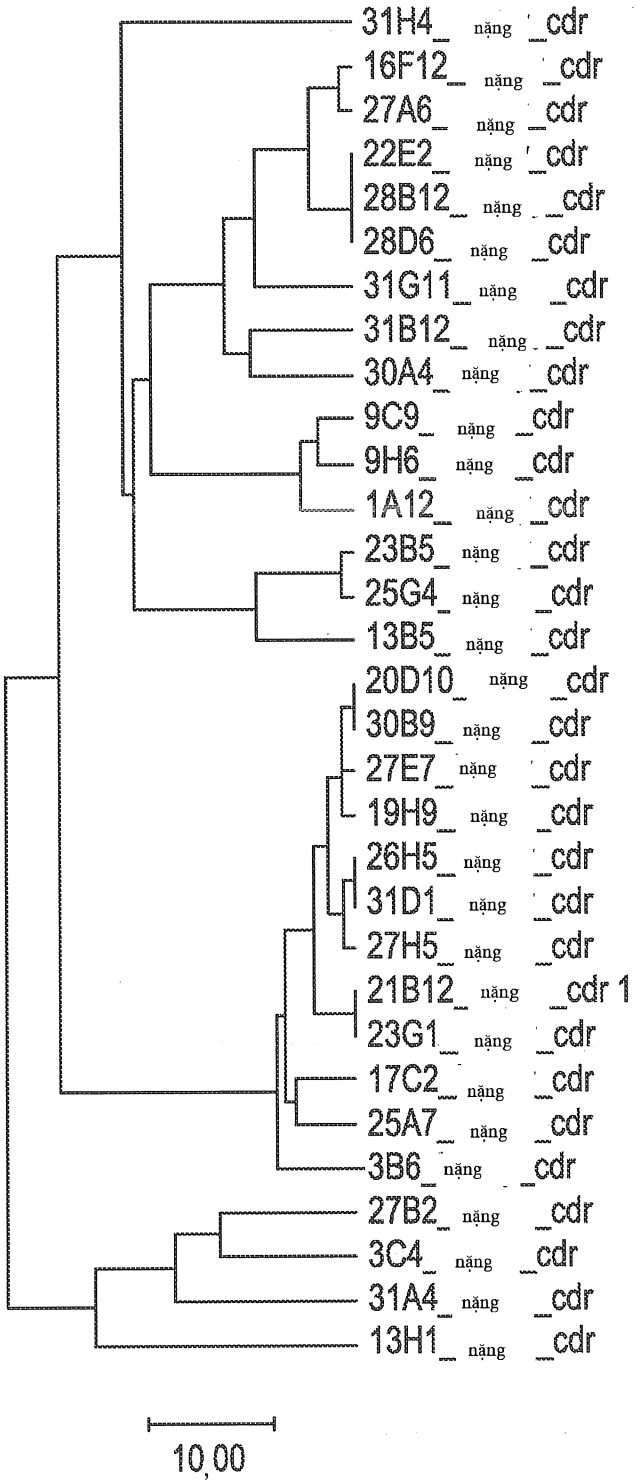
Chuỗi nặng:

20D10_nặng_cdr	~~GYPLTSYGIS	(SEQ ID NO:168)	WISAYNG.NTNYAQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
30B9_nặng_cdr	~~GYPLTSYGIS	(SEQ ID NO:168)	WISAYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
27E7_nặng_cdr	~~GYSLTSYGIS	(SEQ ID NO:366)	WISAYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
19H9_nặng_cdr	~~GYALTSYGIS	(SEQ ID NO:367)	WISAYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
21B12_nặng_cdr	~~GYTLTSYGIS	(SEQ ID NO:368)	WVSFYNG.NTN AQKLQG	(SEQ ID NO:175)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
23G1_nặng_cdr	~~GYTLTSYGIS	(SEQ ID NO:368)	WVSFYNG.NTN AQKLQG	(SEQ ID NO:175)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
26H5_nặng_cdr	~~GYTLTSYGIS	(SEQ ID NO:368)	WISFYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
31D1_nặng_cdr	~~GYTLTSYGIS	(SEQ ID NO:368)	WISFYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
27H5_nặng_cdr	~~GYTLTSYGIS	(SEQ ID NO:368)	WISVYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:174)	GYGMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:180)
17C2_nặng_cdr	~~GYSFTSYGIS	(SEQ ID NO:369)	WVSAYNG.NTN AQKFQG	(SEQ ID NO:178)	GYVMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:387)
25A7_nặng_cdr	~~GYTFPSYGIS	(SEQ ID NO:370)	WISAYNG.NTN AEKLQG	(SEQ ID NO:179)	GYVMDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:387)
3B6_nặng_cdr	~~GITFTSYGIS	(SEQ ID NO:244)	WISTYNG.NTN AQKVQG	(SEQ ID NO:252)	GYTRDV~~~~~~~~	(SEQ ID NO:261)
9C9_nặng_cdr	~~GFTFSSYWMS	(SEQ ID NO:371)	NIKQDGS.EKY VDSVKG	(SEQ ID NO:377)	E....SNWGFAFDI	(SEQ ID NO:385)
9H6_nặng_cdr	~~GFTFSRYWMS	(SEQ ID NO:372)	NIKHDGS.EKY VDSVKG	(SEQ ID NO:378)	E....SNWGFAFDY	(SEQ ID NO:386)
1A12_nặng_cdr	~~GLTFSNFWMS	(SEQ ID NO:373)	NIKQDGS.EKY VDSVKG	(SEQ ID NO:377)	E....SNWGFAFDI	(SEQ ID NO:385)
23B5_nặng_cdr	~~GFTFSSYAMN	(SEQ ID NO:374)	TISGSGD.NTY ADSVKG	(SEQ ID NO:379)	KFVLMVYAMLDY~~	(SEQ ID NO:218)
25G4_nặng_cdr	~~GFTFSSYAMN	(SEQ ID NO:374)	TISGSGG.NTY ADSVKG	(SEQ ID NO:380)	KFVLMVYAMLDY~~	(SEQ ID NO:218)
13B5_nặng_cdr	~~GFTFSSYAMS	(SEQ ID NO:245)	TISGSGG.RTY ADSVKG	(SEQ ID NO:253)	E....VGSPFDY~~	(SEQ ID NO:262)
22E2_nặng_cdr	~~GFTFSSFGMH	(SEQ ID NO:188)	LIWNDGS.NKY ADSVKG	(SEQ ID NO:381)	AIAAL.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:195)
28B12_nặng_cdr	~~GFTFSSFGMH	(SEQ ID NO:188)	LIWNDGS.NKY ADSVKG	(SEQ ID NO:381)	AIAAL.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:195)
28D6_nặng_cdr	~~GFTFSSFGMH	(SEQ ID NO:188)	LIWNDGS.NKY ADSVKG	(SEQ ID NO:381)	AIAAL.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:195)
16F12_nặng_cdr	~~GFTFNSFGMH	(SEQ ID NO:375)	LIWSDGS.DEY ADSVKG	(SEQ ID NO:382)	AIAAL.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:195)
27A6_nặng_cdr	~~GFTFNSFGMH	(SEQ ID NO:375)	LIWSDGS.DKY ADSVKG	(SEQ ID NO:383)	AIAAL.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:195)
31G11_nặng_cdr	~~GFTFRSYGMH	(SEQ ID NO:376)	LIWHDGS.NTY VDSVKG	(SEQ ID NO:384)	GIAVA.YYYYGMDV	(SEQ ID NO:196)
30A4_nặng_cdr	~~GFTFSSYGMH	(SEQ ID NO:246)	VIWYDGS.DKY ADSVKG	(SEQ ID NO:254)	ETGPLKLYYYGMDV	(SEQ ID NO:263)
31B12_nặng_cdr	~~GFTFSSYGMH	(SEQ ID NO:246)	IIWYDGS.NKY ADSVKG	(SEQ ID NO:255)	R.GGLAARPGGMDV	(SEQ ID NO:264)
31H4_nặng_cdr	~~GFTFSSYSMN	(SEQ ID NO:247)	SISSSSS.YIS ADSVKG	(SEQ ID NO:256)	DYDFWSAYIDAFDV	(SEQ ID NO:265)
27B2_nặng_cdr	GGSISSGGYYWS	(SEQ ID NO:248)	YIYNSGSTY.. NPSLKS	(SEQ ID NO:257)	ED.TAMVPI.FDY~	(SEQ ID NO:266)
3C4_nặng_cdr	GGSISSDYYWS	(SEQ ID NO:249)	YIYYSGSTY.. NPSLKS	(SEQ ID NO:258)	GG.VTTYYYAMDV~	(SEQ ID NO:267)
31A4_nặng_cdr	GGSFSA..YYWN	(SEQ ID NO:250)	EINHSGRTD.. NPSLKS	(SEQ ID NO:259)	GQ.LVPFDI~~~~~	(SEQ ID NO:268)
13H1_nặng_cdr	GDSVSSNSAAWN	(SEQ ID NO:251)	RTYYRSKWYKN SVSVKS	(SEQ ID NO:260)	GGPTAAFDI~~~~~	(SEQ ID NO:269)

*

Trình tự liên ứng

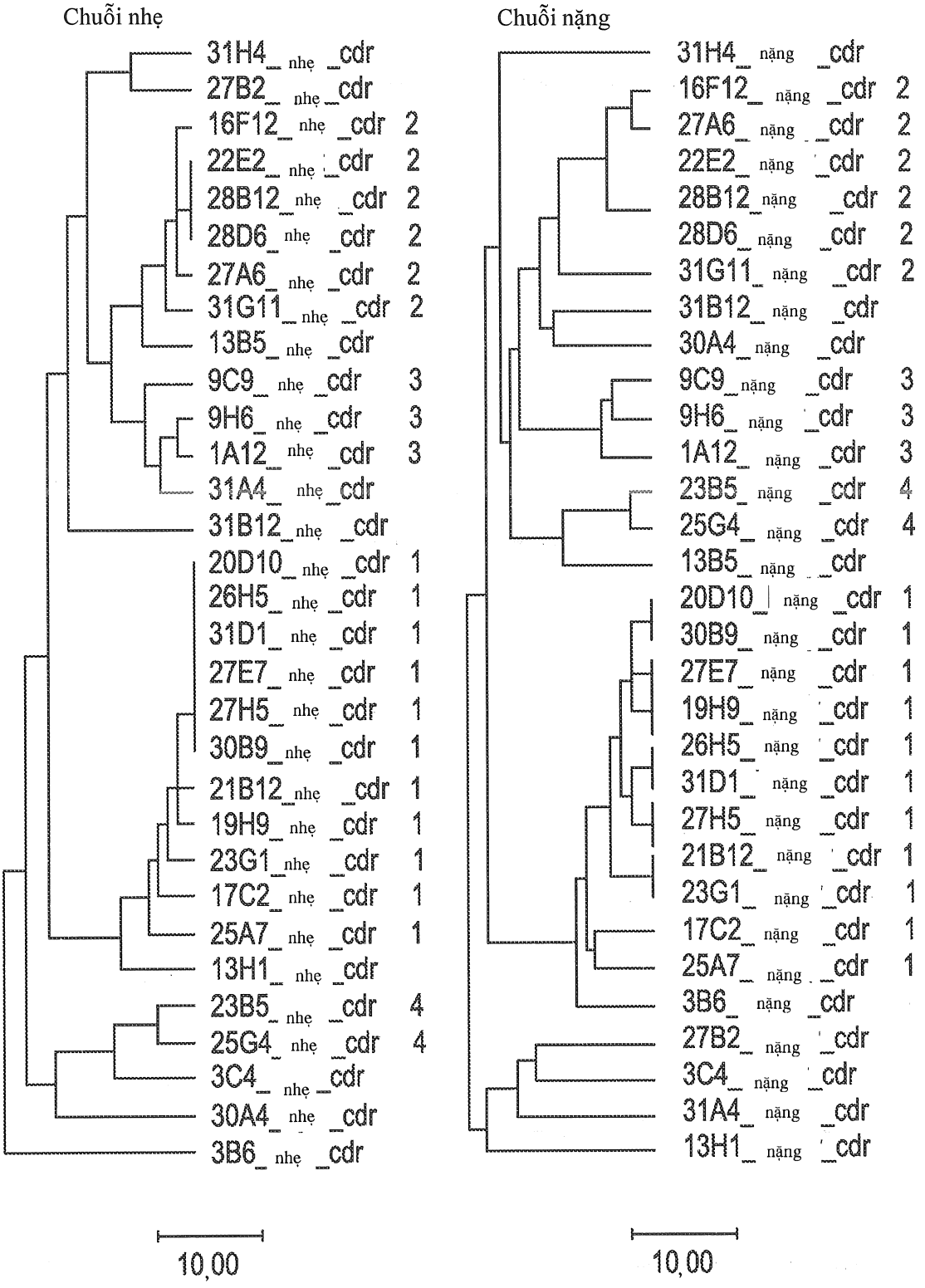
Fig. 13D



Gốc thay thế trên 100 gốc

108/155

Fig. 13E



Các gốc thay thế trên 100 gốc

Các gốc thay thế trên 100 gốc

Fig.13F

Trình tự liên ứng đối với nhóm 1:

20D10_ nhẹ_nặng	_cdr	IGISSDVGGYNSVS	(SEQ ID NO:158)			EVSNRFS	(SEQ ID NO:162)			SSYISISMV	(SEQ ID NO:164)
30B9_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
27E7_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
19H9_ nhẹ_nặng	_cdr	N G	(SEQ ID NO:159)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
21B12_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			N TSM	(SEQ ID NO:165)
23G1_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			T	(SEQ ID NO:163)			N TSM	(SEQ ID NO:165)
26H5_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
31D1_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
27H5_ nhẹ_nặng	_cdr	S G	(SEQ ID NO:158)			S	(SEQ ID NO:162)			S TSM	(SEQ ID NO:164)
17C2_ nhẹ_nặng	_cdr	S A	(SEQ ID NO:160)			S	(SEQ ID NO:162)			S TNM	(SEQ ID NO:166)
25A7_ nhẹ_nặng	_cdr	S R	(SEQ ID NO:161)			S	(SEQ ID NO:162)			S SGV	(SEQ ID NO:167)
		*** **** *****				** ****				**** *	
20D10_ nhẹ_nặng	_cdr	GYPLTSYGIS	(SEQ ID NO:168)	WISAYNGNTNYAQKVQG			(SEQ ID NO:174)	GYGMDV		(SEQ ID NO:180)	
30B9_ nhẹ_nặng	_cdr	PLI	(SEQ ID NO:168)	I A		Q V	(SEQ ID NO:174)	G		(SEQ ID NO:180)	
27E7_ nhẹ_nặng	_cdr	SLI	(SEQ ID NO:169)	I A		Q V	(SEQ ID NO:174)	G		(SEQ ID NO:180)	
19H9_ nhẹ_nặng	_cdr	ALI	(SEQ ID NO:170)	I A		Q V	(SEQ ID NO:174)	G		(SEQ ID NO:180)	
21B12_ nhẹ_nặng	_cdr	TLI	(SEQ ID NO:171)	V F		Q L	(SEQ ID NO:175)	G		(SEQ ID NO:180)	
23G1_ nhẹ_nặng	_cdr	TLI	(SEQ ID NO:171)	V F		Q L	(SEQ ID NO:175)	G		(SEQ ID NO:180)	
26H5_ nhẹ_nặng	_cdr	TLI	(SEQ ID NO:171)	I F		Q V	(SEQ ID NO:176)	G		(SEQ ID NO:180)	
31D1_ nhẹ_nặng	_cdr	TLI	(SEQ ID NO:171)	I F		Q V	(SEQ ID NO:176)	G		(SEQ ID NO:180)	
27H5_ nhẹ_nặng	_cdr	TLI	(SEQ ID NO:171)	I V		Q V	(SEQ ID NO:177)	G		(SEQ ID NO:180)	
17C2_ nhẹ_nặng	_cdr	SFI	(SEQ ID NO:172)	V A		Q F	(SEQ ID NO:178)	V		(SEQ ID NO:181)	
25A7_ nhẹ_nặng	_cdr	IFP	(SEQ ID NO:173)	I A		E L	(SEQ ID NO:179)	V		(SEQ ID NO:181)	
		** *****		* * ********* * **				** ***			

Trình tự liên ứng đối với nhóm 2

22E2_ nhẹ_nặng	_cdr	SGSSSNIGRNFVS	(SEQ ID NO:182)			DYNRPS	(SEQ ID NO:183)	GIWDSSLSGYV		(SEQ ID NO:185)	
28B12_ nhẹ_nặng	_cdr		(SEQ ID NO:182)			Y	(SEQ ID NO:183)		G	(SEQ ID NO:185)	
28D6_ nhẹ_nặng	_cdr		(SEQ ID NO:182)			Y	(SEQ ID NO:183)		G	(SEQ ID NO:185)	
16F12_ nhẹ_nặng	_cdr		(SEQ ID NO:182)			Y	(SEQ ID NO:183)		A	(SEQ ID NO:186)	
27A6_ nhẹ_nặng	_cdr		(SEQ ID NO:182)			Y	(SEQ ID NO:183)		S	(SEQ ID NO:187)	
31G11_ nhẹ_nặng	_cdr		(SEQ ID NO:182)			S	(SEQ ID NO:184)		A	(SEQ ID NO:186)	
		**********				* *****		******** **			
22E2_ nhẹ_nặng	_cdr	GFTFSSFGMH	(SEQ ID NO:188)	LIWNDGSNKYYADSVKG			(SEQ ID NO:191)	AIAALYYYGMDV		(SEQ ID NO:195)	
28B12_ nhẹ_nặng	_cdr	S F	(SEQ ID NO:188)	N NK A			(SEQ ID NO:191)	A AL		(SEQ ID NO:195)	
28D6_ nhẹ_nặng_	cdr	S F	(SEQ ID NO:186)	N NK A			(SEQ ID NO:191)	A AL		(SEQ ID NO:195)	
16F12_ nhẹ_nặng	_cdr	N F	(SEQ ID NO:189)	S DE A			(SEQ ID NO:192)	A AI		(SEQ ID NO:195)	
27A6_ nhẹ_nặng	_cdr	N F	(SEQ ID NO:188)	S DK A			(SEQ ID NO:193)	A AL		(SEQ ID NO:195)	
31G11_ nhẹ_nặng	_cdr	R Y	(SEQ ID NO:190)	H NT V			(SEQ ID NO:194)	G VA		(SEQ ID NO:196)	
		**** * ***		*** *** ** *****				** ********			

Fig.13G

Trình tự liên ứng đối với nhóm 3

```
9H6_ nhẹ_nặng   _cdr  SGSSSNIGSNTVN (SEQ ID NO:197)   SNNERPS (SEQ ID NO:199)   AAWDDSLNGV (SEQ ID NO:201)
1A12_ nhẹ_nặng  _cdr           K    (SEQ ID NO:198)   S  R  S (SEQ ID NO:199)
9C9_ nhẹ_nặng   _cdr           K    (SEQ ID NO:198)   R  Q  L (SEQ ID NO:200)
                      ********* ***                     ** **                ***********

9H6_ nhẹ_nặng   _cdr  GFTFSRYWMS (SEQ ID NO:202)   NIKHDGSEKYYVDSVKG (SEQ ID NO:205)   ESNWGFAFDV (SEQ ID NO:207)
1A12_ nhẹ_nặng  _cdr  L   NF    (SEQ ID NO:203)     Q                 (SEQ ID NO:206)              I (SEQ ID NO:208)
9C9_ nhẹ_nặng   _cdr  F   SY    (SEQ ID NO:204)     Q                 (SEQ ID NO:206)              I (SEQ ID NO:208)
                      * ***  ***                  *** **************                 *********
```

Trình tự liên ứng đối với Nhóm 4

```
23B5_ nhẹ_nặng   _cdr  RASQSISSYLN (SEQ ID NO:209)   AASSLQS (SEQ ID NO:211)   CQSYSSPIT (SEQ ID NO:213)
25G4_ nhẹ_nặng   _cdr         I    (SEQ ID NO:210)     A     (SEQ ID NO:212)         A   (SEQ ID NO:214)
                       ******* ***                   ** ****                  ***** ***

23B5_ nhẹ_nặng   _cdr  GFTFSSYAMH (SEQ ID NO:215)   TISGSGDNIYYADSVKG (SEQ ID NO:216)   XFVLMVYAMLDY (SEQ ID NO:218)
25G4_ nhẹ_nặng   _cdr                               G                 (SEQ ID NO:217)
                      **********                   ****** **********                   ************
```

Fig.13H

Nhóm 1 (11 trình tự)

	LV_CDR1	SEQ ID NO:	LV_CDR2	SEQ ID NO:	LV_CDR3	SEQ ID NO:	H_CDR1	SEQ ID NO:	H_CDR2	SEQ ID NO:	H_CDR3	SEQ ID NO:
	1										58	
Trình tự liên ứng	TGTSSDVGGYNSVS	305	EVSNRPS	306	SSYTSTSMV	307	SYGIS	308	WISAYNGNTNYAQKVQG	309	GYGMDV	310
25A7	........R.....	311	....	312	.....S.V.	313	.....	308	............E.L..	314	..V...	315
17C2	........A.....	316	....	312	......N..	317	.....	308	.V............F..	318	..V...	315
21B12	....	305	....	312	N........	319	.....	308	.V.F..........L..	320	......	310
23G1	....	305	..T....	321	N........	319	.....	308	.V.F..........L..	320	......	310
19H9	...N..........	322	....	312	....	307	.....	308	....	309	......	310
27H5	....	305	....	312	....	307	.....	308	...V.............	323	......	310
26H5	....	305	....	312	....	307	.....	308	...F.............	324	......	310
31D1	....	305	....	312	....	307	.....	308	...F.............	324	......	310
27E7	....	305	....	312	....	307	.....	308	....	309	......	310
20D10	....	305	....	312	....	307	.....	308	....	309	......	310
30B9	....	305	....	312	....	307	.....	308	....	309	......	310

Nhóm 2 (6 trình tự)

Chuỗi nhẹ:

	LV_CDR1	SEQ ID NO:	LV_CDR2	SEQ ID NO:	LV_CDR3	SEQ ID NO:
	1					
Trình tự liên ứng	SGSSSNIGNNFVS	325	DYNKRPS	326	GTWDSSLSGYV	327
31G11	....	325	.S.....	331	........A..	332
28D6	....	325	....	326	....	327
28B12	....	325	....	326	....	327
22E2	....	325	....	326	....	327
16F12	....	325	....	326	........A..	332
27A6	....	325	....	326	........S..	337

Fig. 13I

Nhóm 2, tiếp tục

Chuỗi nặng:

Trình tự liên ứng	H_CDR1	SEQ ID NO:	H_CDR2	SEQ ID NO:	H_CDR3	SEQ ID NO: 66
	SFGMH	328	LIWNDGSNKYYADSVKG	329	AIAALYYYYGMDV	330
31G11	.Y...	333	...H.....T..V.....	334	G..VA.....	335
28D6	.....	328	.....	329	.....	330
28B12	.....	328	.....	329	.....	330
22E2	.....	328	.....	329	.....	330
16F12	.....	328	...S....DE.....	336	.....	330
27A6	.....	328	...S....D.....	338	.....	330

Nhóm 3 (3 trình tự)

Fig.13J

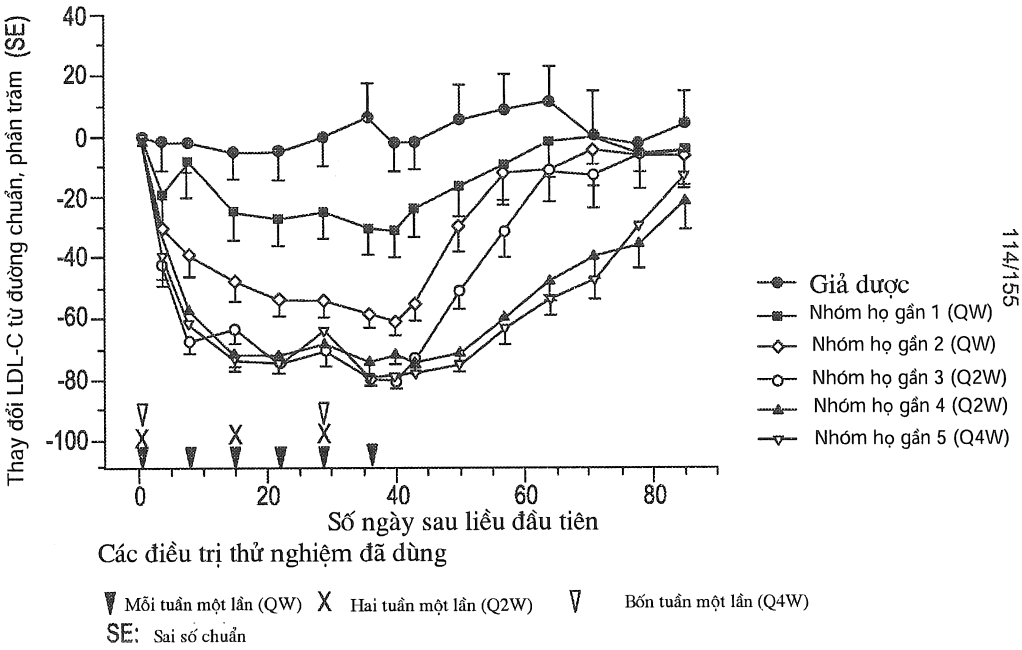
	LV_CDR1	SEQ ID NO:	LV_CDR2	SEQ ID NO:	LV_CDR3	SEQ ID NO:	H_CDR1	SEQ ID NO:	H_CDR2	SEQ ID NO:	H_CDR3	SEQ ID NO:
	1										62	
Trình tự liên ứng	SGSSSNIGSKTVN	339	SNNRRPS	340	AAWDDSLNWV	341	YWMS	342	NIKQDGSEKYYVDSVKG	343	ESNWGFAFDI	344
9H6	.........N...	345	....	340	....	341	R....	346	...H..............	347	V	348
9C9	....	339	R..Q..L	349	....	341	S....	350	....	343	....	344
1A12	....	339	....	340	....	341	NF...	351	....	343	....	344

Nhóm 4 (2 trình tự)

	KV_CDR1	SEQ ID NO:	KV_CDR2	SEQ ID NO:	KV_CDR3	SEQ ID NO:
	1					
Trình tự liên ứng	RASQSIS YLN	352	AA SLQS	353	QQSYS PIT	354
25G4	.......I...	355	..A....	356	.....A...	357
23B5	.......S...	358	..S....	359	.....S...	360

	H_CDR1	SEQ ID NO:	H_CDR2	SEQ ID NO:	H_CDR3	SEQ ID NO:
					71	
Trình tự liên ứng	SYAMN	361	TISGSG NTYYADSVKG	362	KFVLMVYAMLDY	363
25G4	.....	361	......G..........	364	....	363
23B5	.....	361	......D..........	365	....	363

Fig. 14



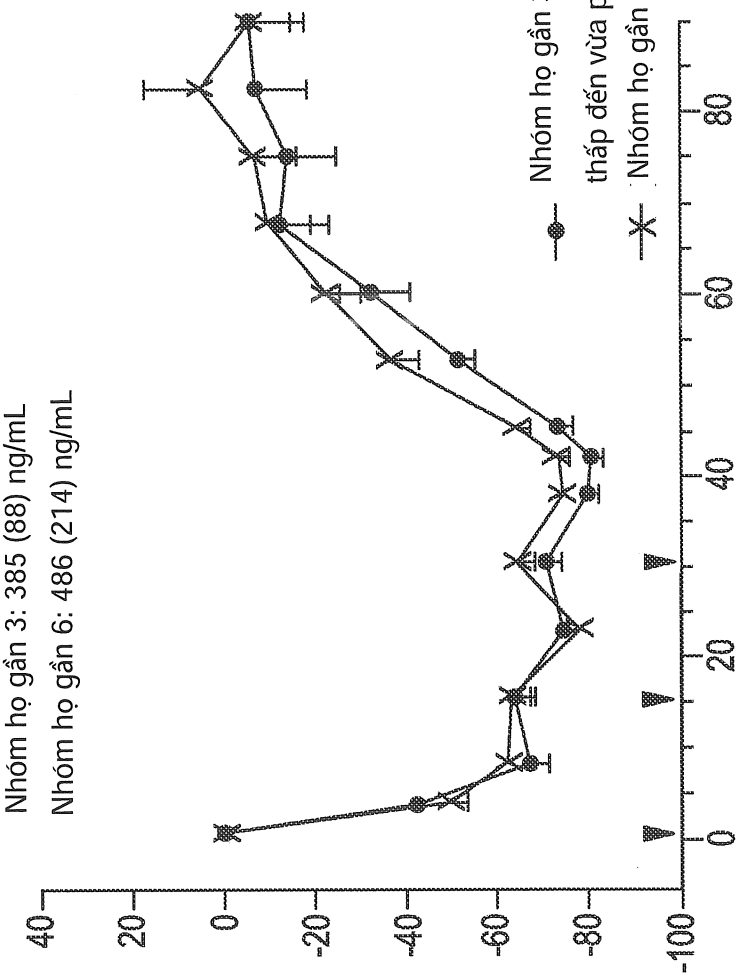
Các điều trị thử nghiệm đã dùng

▼ Mỗi tuần một lần (QW) X Hai tuần một lần (Q2W) ▽ Bốn tuần một lần (Q4W)

SE: Sai số chuẩn

Fig.15

PCSK9 đường chuẩn, trung bình (SD)
Nhóm họ gấn 3: 385 (88) ng/mL
Nhóm họ gấn 6: 486 (214) ng/mL



▼ Các chất điều trị nghiên cứu được dùng hai tuần một lần (Q2W)

SE: Sai số chuẩn

Fig. 16

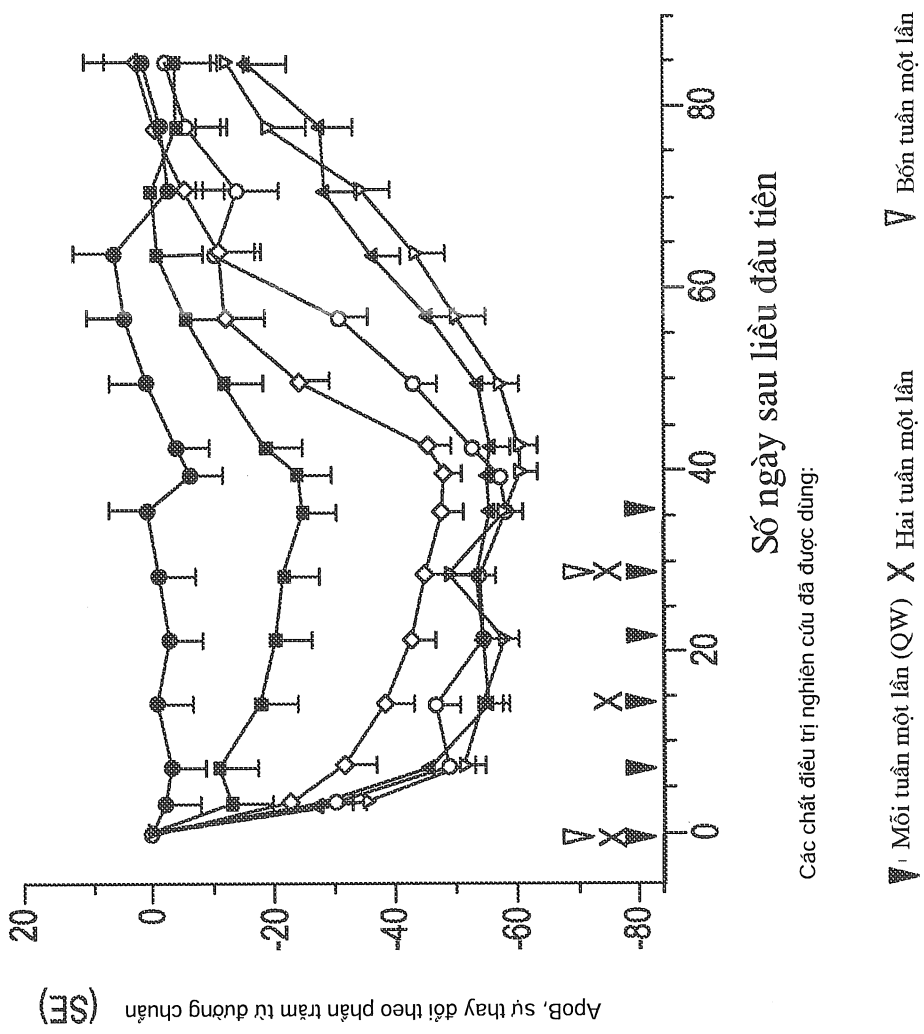
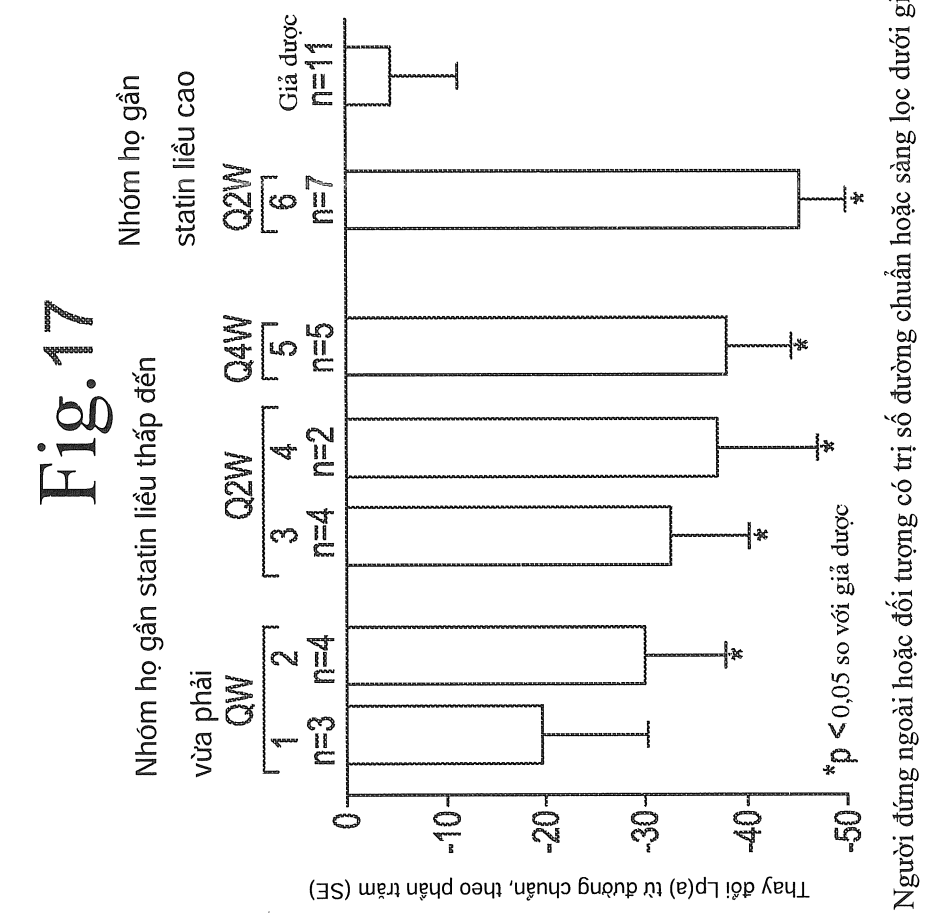

Giả dược
Nhóm họ gần 1 (QW)
Nhóm họ gần 2 (QW)
Nhóm họ gần 3 (Q2W)
Nhóm họ gần 4 (Q2W)
Nhóm họ gần 5 (Q4W)
20
0
-20
-40
-60
-80
0
20
40
60
80
Số ngày sau liều đầu tiên
ApoB, sự thay đổi theo phần trăm từ đường chuẩn (SE)
Các chất điều trị nghiên cứu đã được dùng:
Mỗi tuần một lần (QW)
Hai tuần một lần
Bốn tuần một lần
SE: Sai số chuẩn

Fig. 17



Người đứng ngoài hoặc đối tượng có trị số đường chuẩn hoặc sàng lọc dưới giới hạn dưới về lượng được loại trừ khỏi phân tích

SE: Sai số chuẩn ; QW: Mỗi tuần một lần; Q2W: Hai tuần một lần ; Q4W: Bốn tuần một lần (QW)

Fig.18

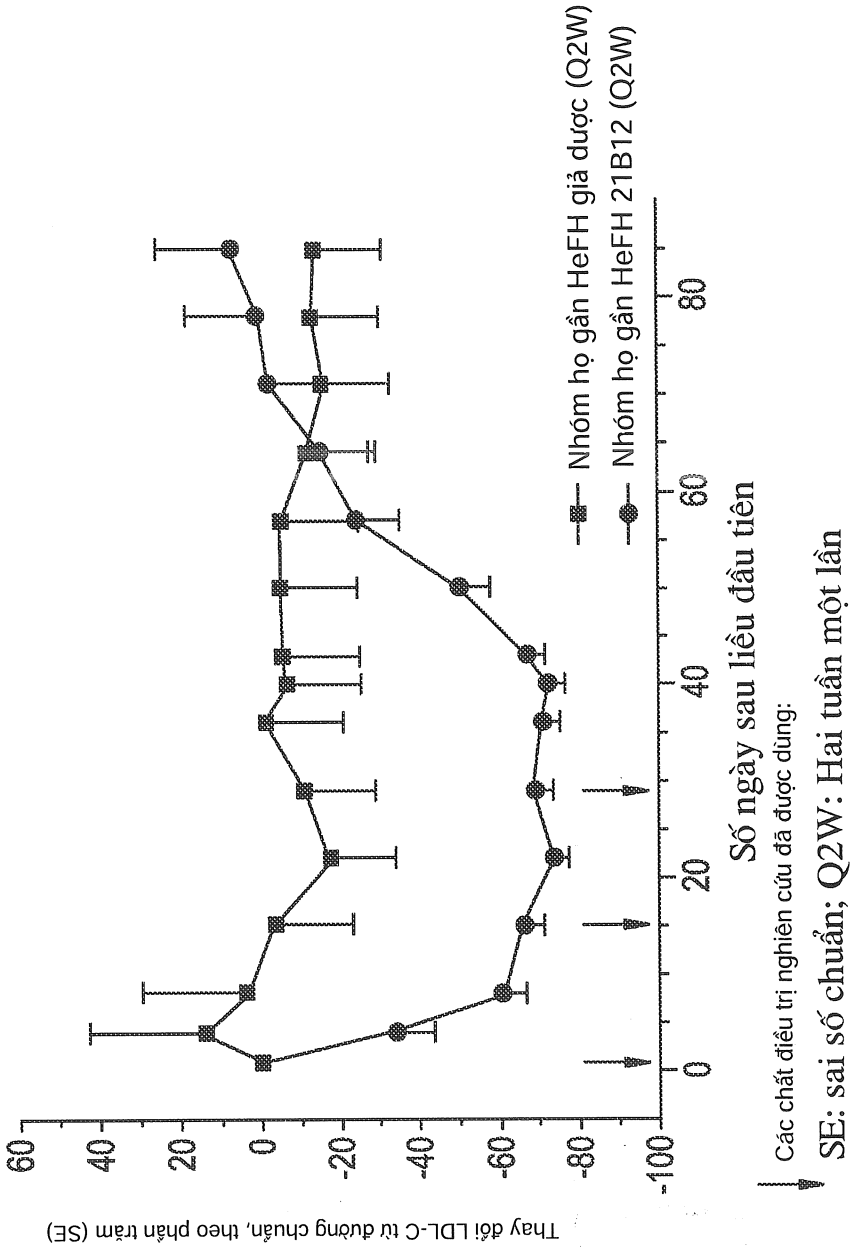
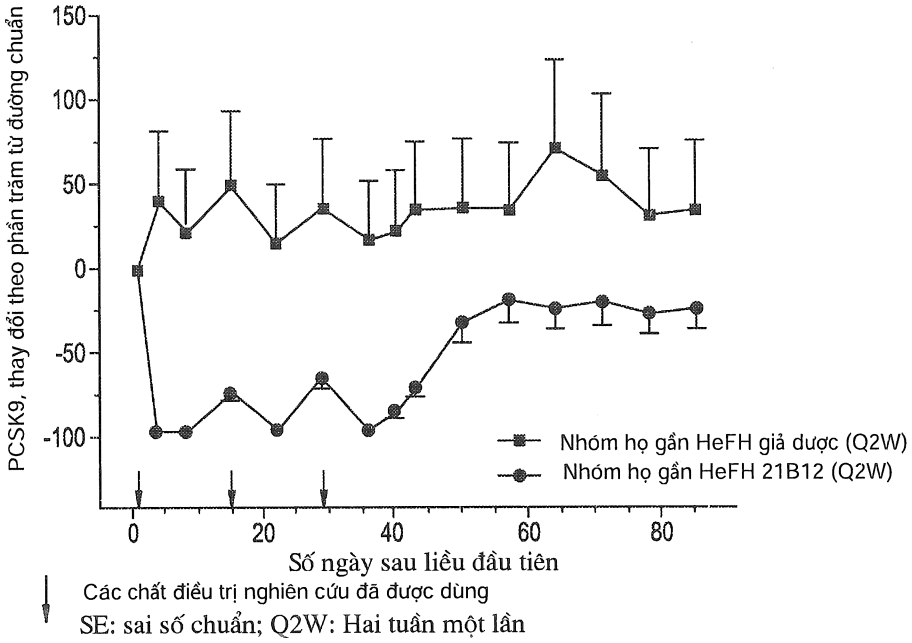

Thay đổi LDL-C từ đường chuẩn, theo phần trăm (SE)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
Số ngày sau liều đầu tiên
Nhóm họ gần HeFH giả dược (Q2W)
Nhóm họ gần HeFH 21B12 (Q2W)
Các chất điều trị nghiên cứu đã được dùng:
SE: sai số chuẩn; Q2W: Hai tuần một lần

Fig. 19



Các chất điều trị nghiên cứu đã được dùng

SE: sai số chuẩn; Q2W: Hai tuần một lần

Fig. 20

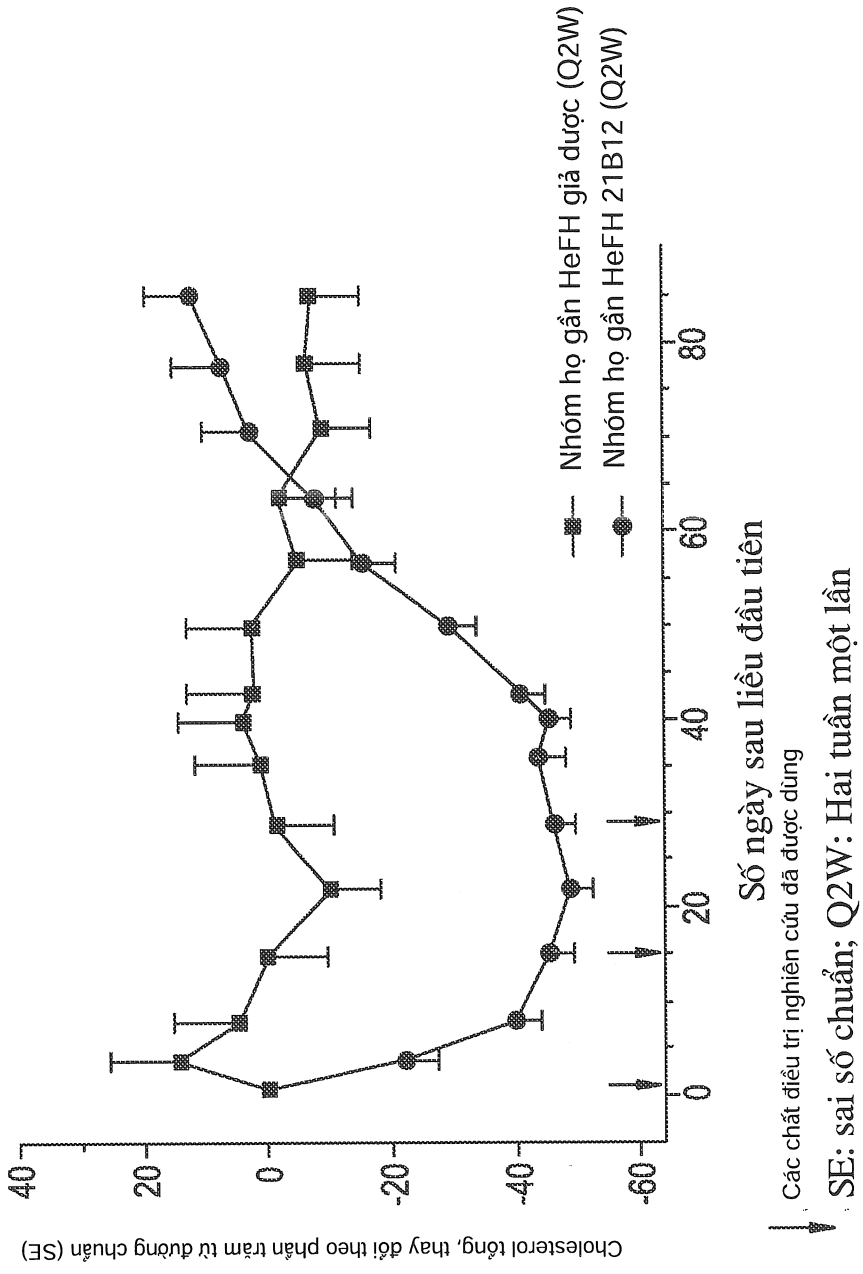

Cholesterol tổng, thay đổi theo phần trăm từ đường chuẩn (SE)
40
20
0
-20
-40
-60
0
20
40
60
80
Số ngày sau liều đầu tiên
Nhóm họ gần HeFH giả dược (Q2W)
Nhóm họ gần HeFH 21B12 (Q2W)
Các chất điều trị nghiên cứu đã được dùng
SE: sai số chuẩn; Q2W: Hai tuần một lần

Fig. 21

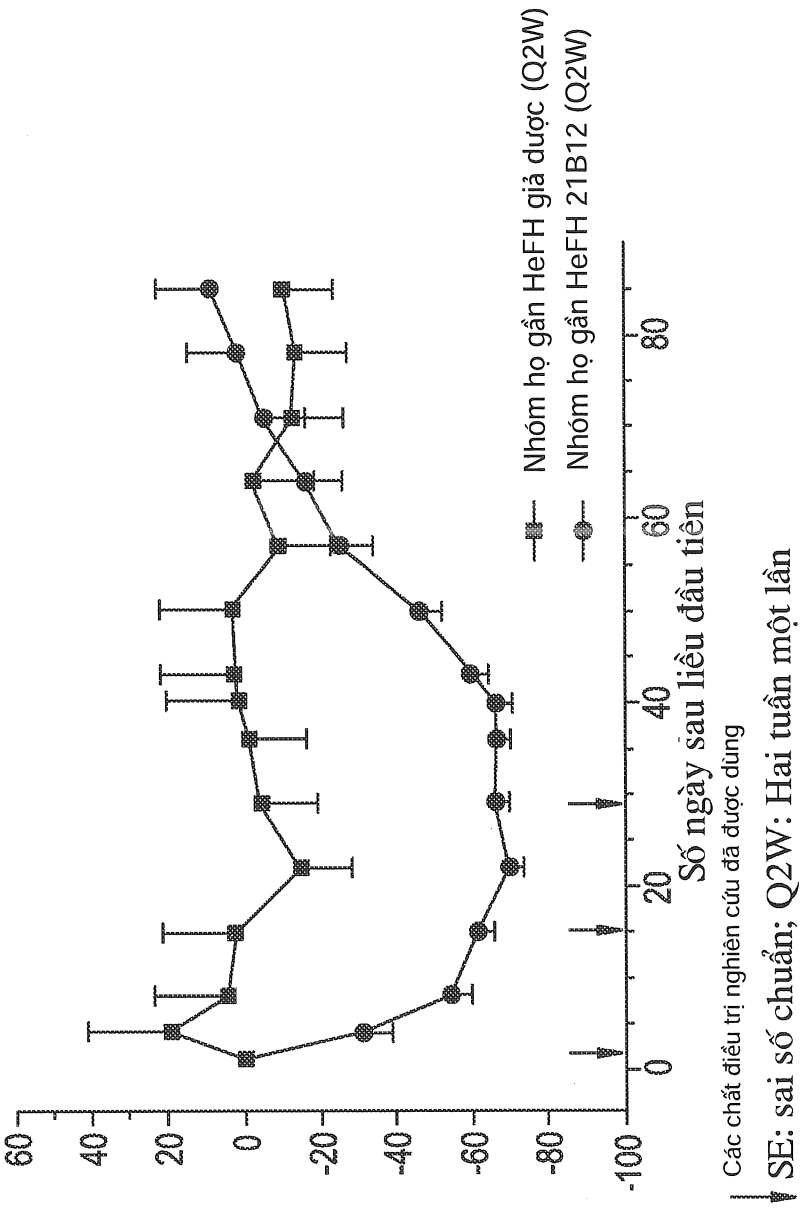
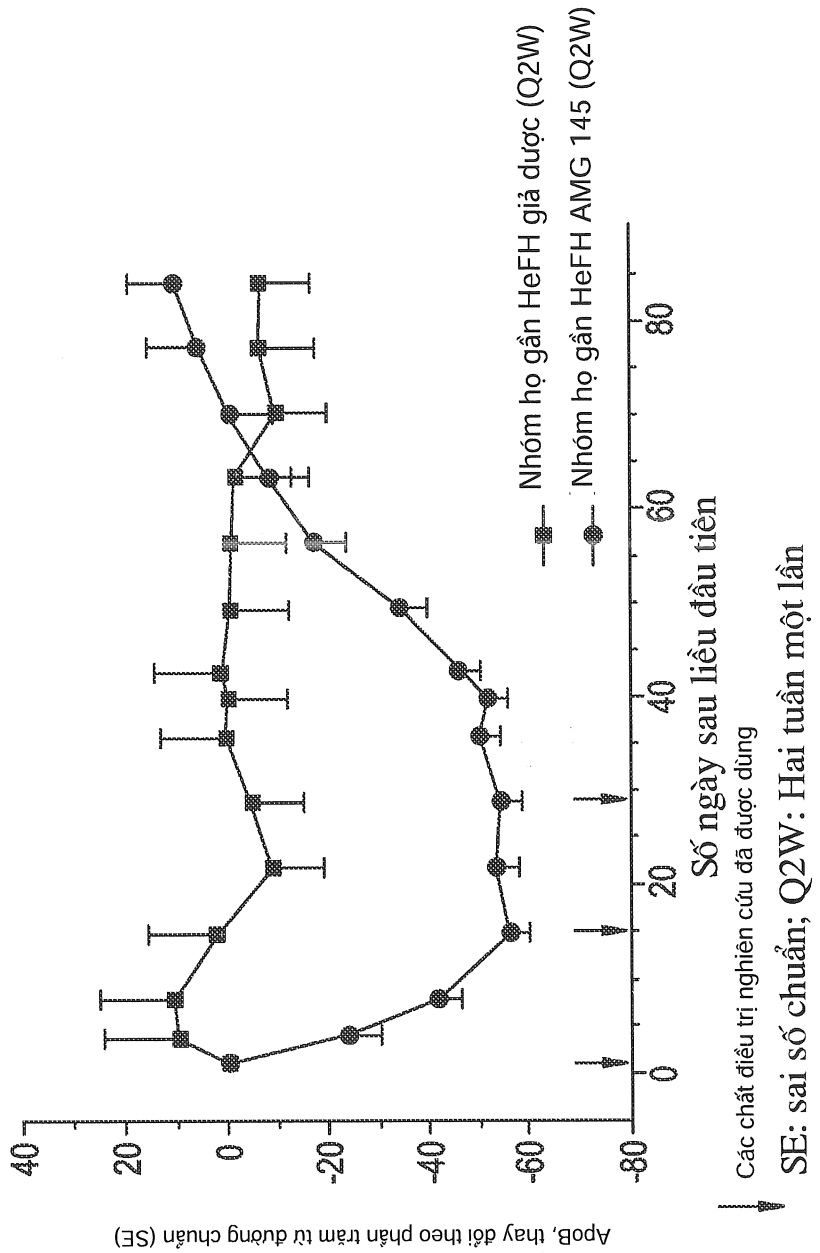

Hàm lượng không có HDL-C, thay đổi theo phần trăm từ đường chuẩn (SE)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
Số ngày sau liều đầu tiên
Nhóm họ gần HeFH giả dược (Q2W)
Nhóm họ gần HeFH 21B12 (Q2W)
Các chất điều trị nghiên cứu đã được dùng
SE: sai số chuẩn; Q2W: Hai tuần một lần

Fig. 22



SE: sai số chuẩn; Q2W: Hai tuần một lần

Fig. 23

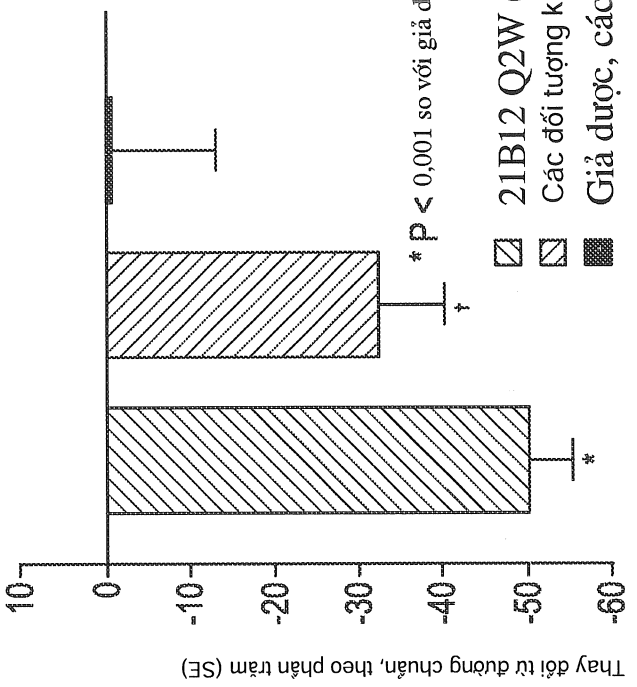

Thay đổi từ đường chuẩn, theo phần trăm (SE)
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
*
†
* P < 0,001 so với giả dược
† P < 0,05 so với giả dược
21B12 Q2W (3 liều), các đối tượng HeFH
Các đối tượng không có HeFH, được làm phù hợp liều 21B12
Giả dược, các đối tượng HeFH
SE: sai số chuẩn

Fig. 24B

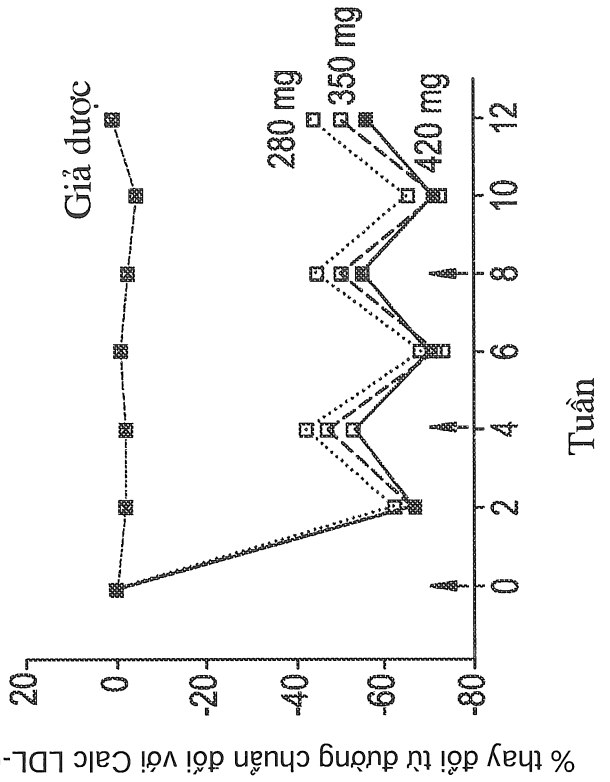


Fig. 24A

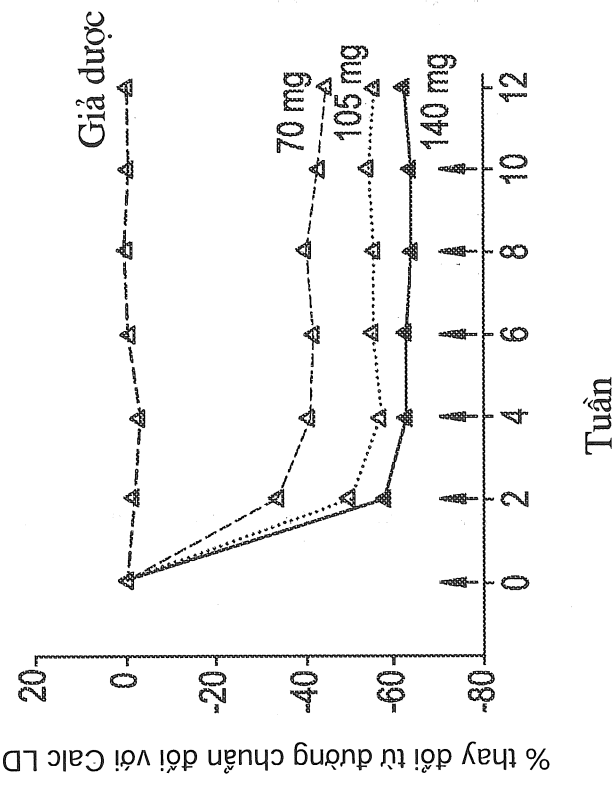


Fig. 25B

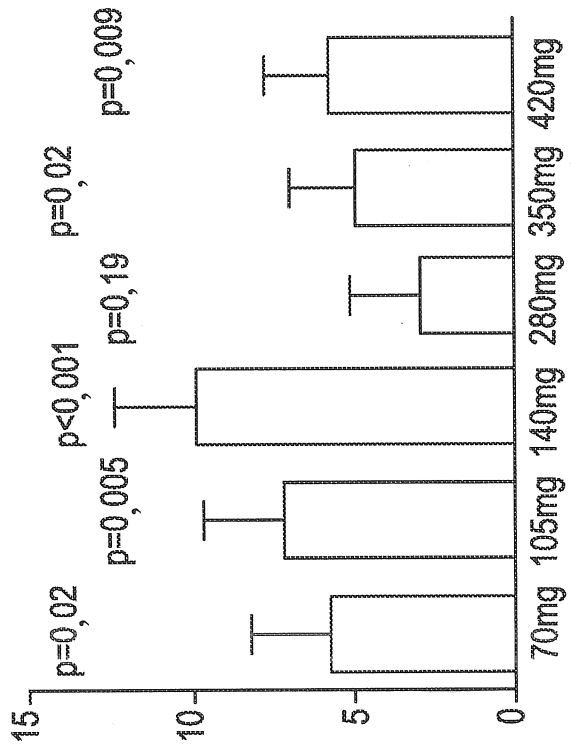


Fig. 25A

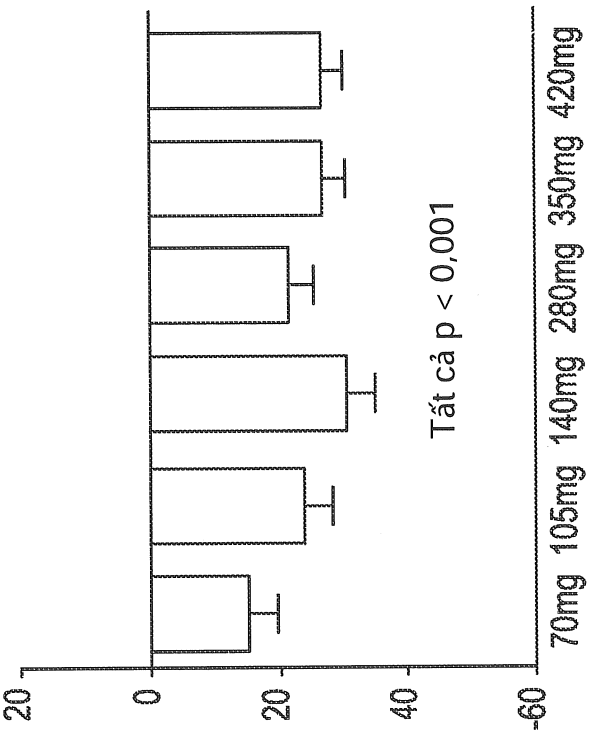


Fig. 25C

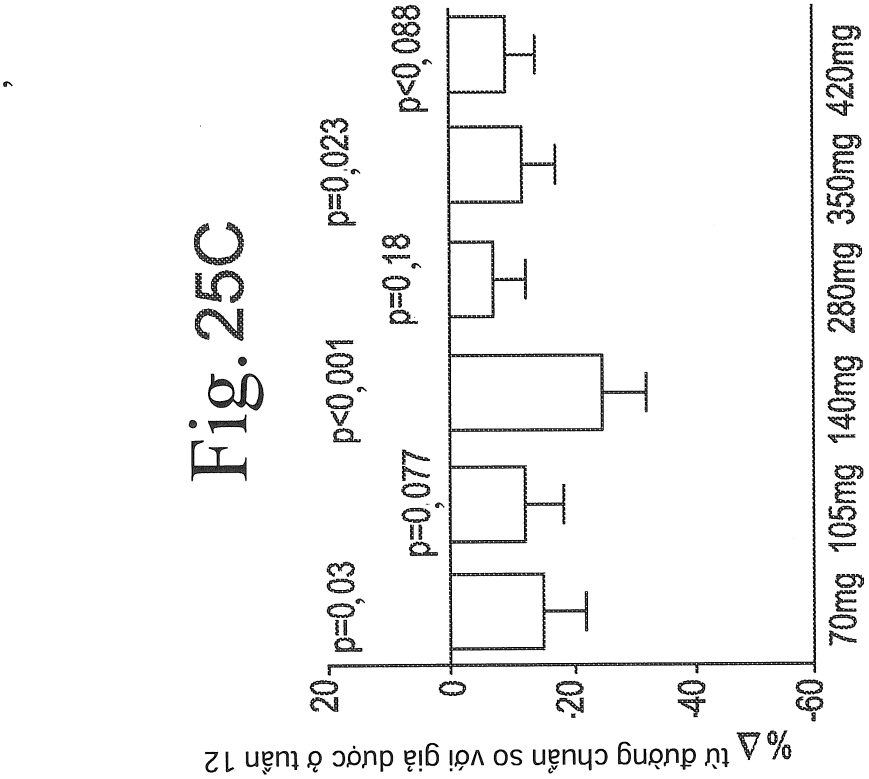


Fig. 25D

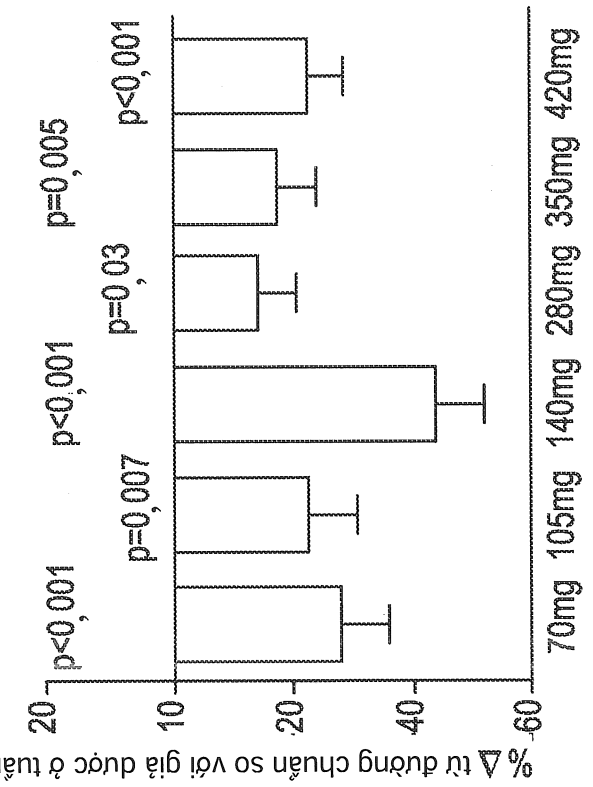


Fig. 26

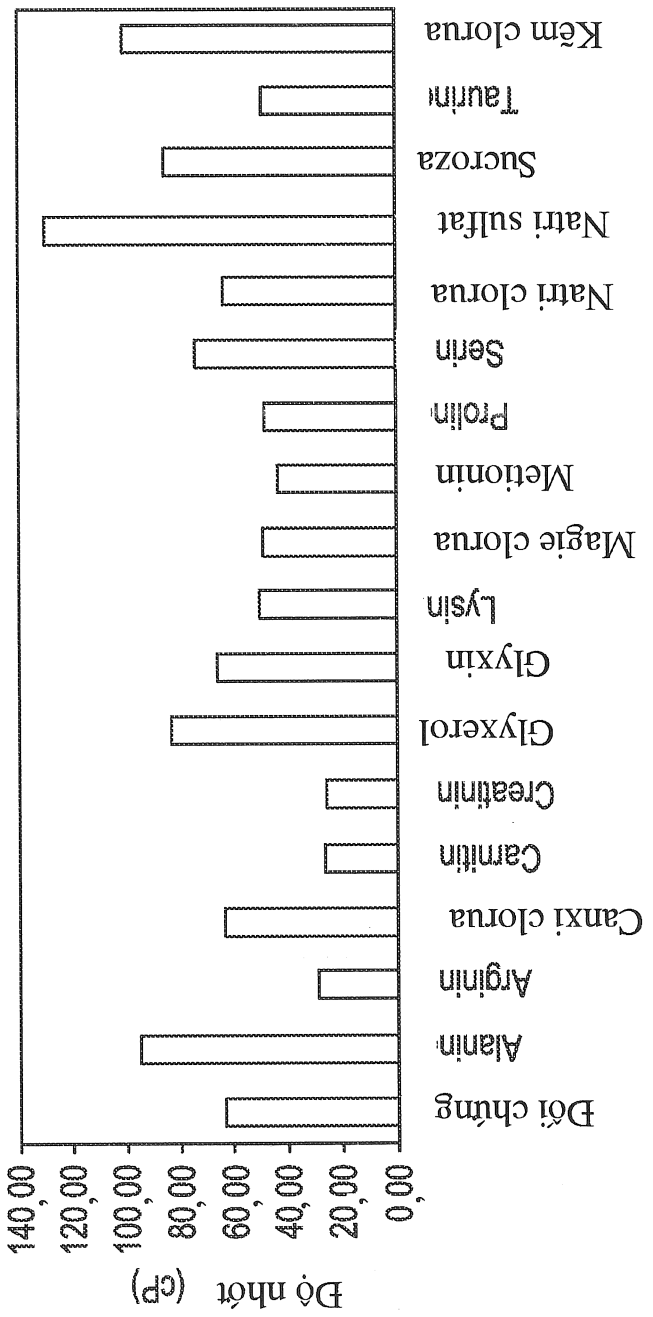

Độ nhớt (cP)
140,00
120,00
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
0,00
Đối chứng
Alanin
Arginin
Canxi clorua
Carnitin
Creatinin
Glyxerol
Glyxin
Lysin
Magie clorua
Metionin
Prolin
Serin
Natri clorua
Natri sulfat
Sucroza
Taurin
Kẽm clorua
Chất làm ổn định/tá dược

Fig. 27

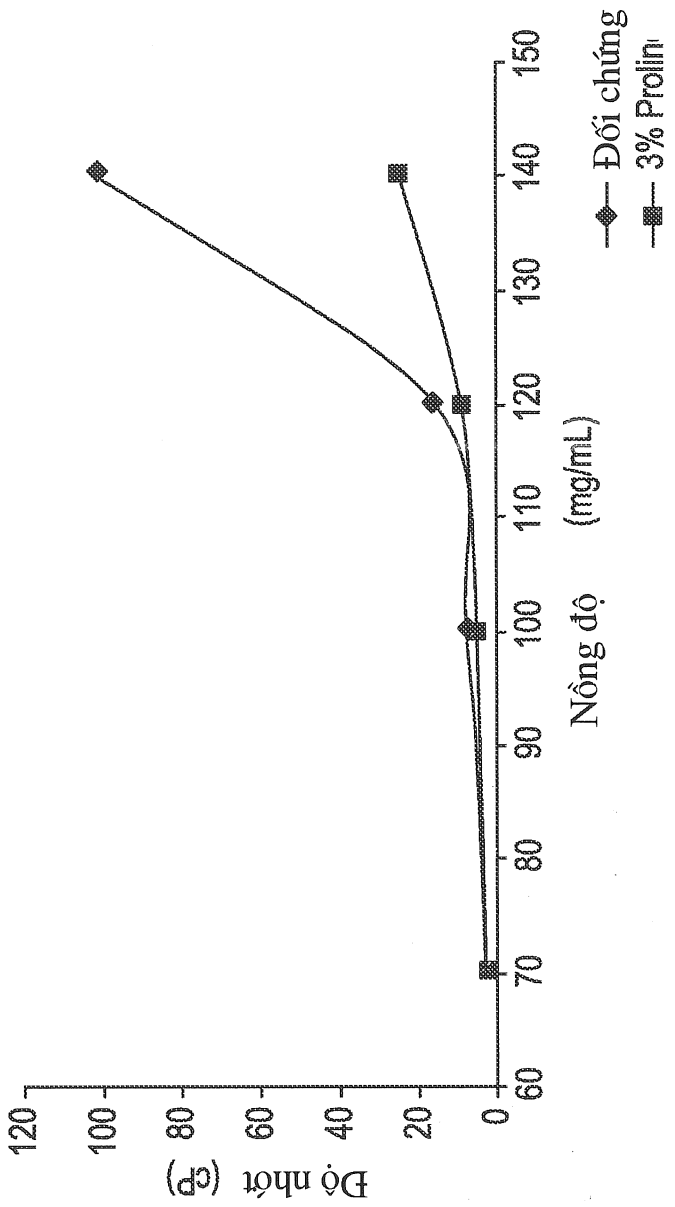

Độ nhớt (cP)
120
100
80
60
40
20
0
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
Nồng độ (mg/mL)
Đối chứng
3% Prolin

Fig. 28A

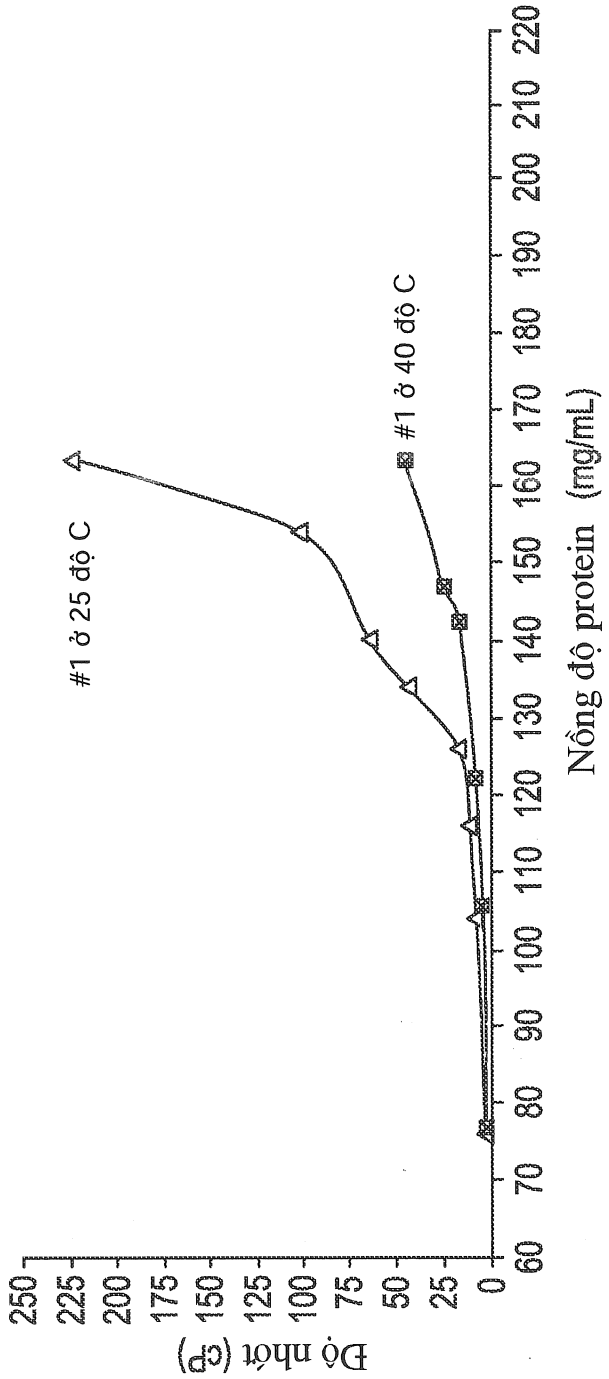

#1 ở 25 độ C
#1 ở 40 độ C
Độ nhớt (cP)
Nồng độ protein (mg/mL)
250
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220

Fig. 28B

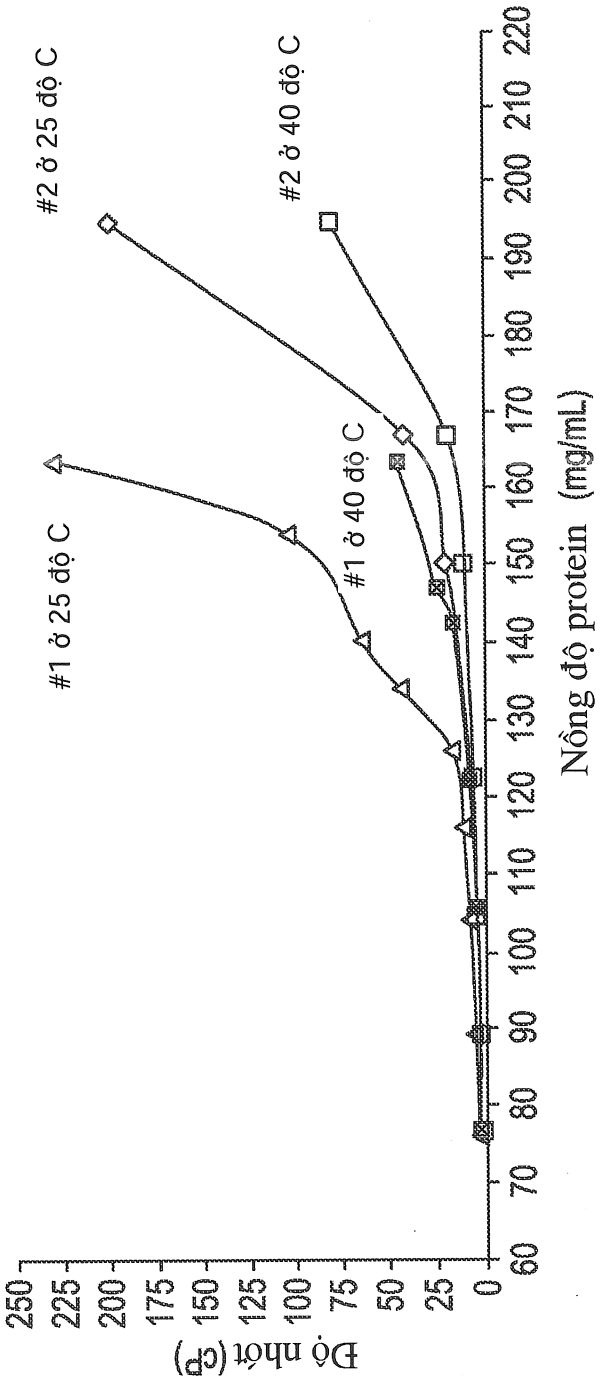

#2 ở 25 độ C
#2 ở 40 độ C
#1 ở 25 độ C
#1 ở 40 độ C
Độ nhớt (cP)
Nồng độ protein (mg/mL)
250
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220

Fig. 28C

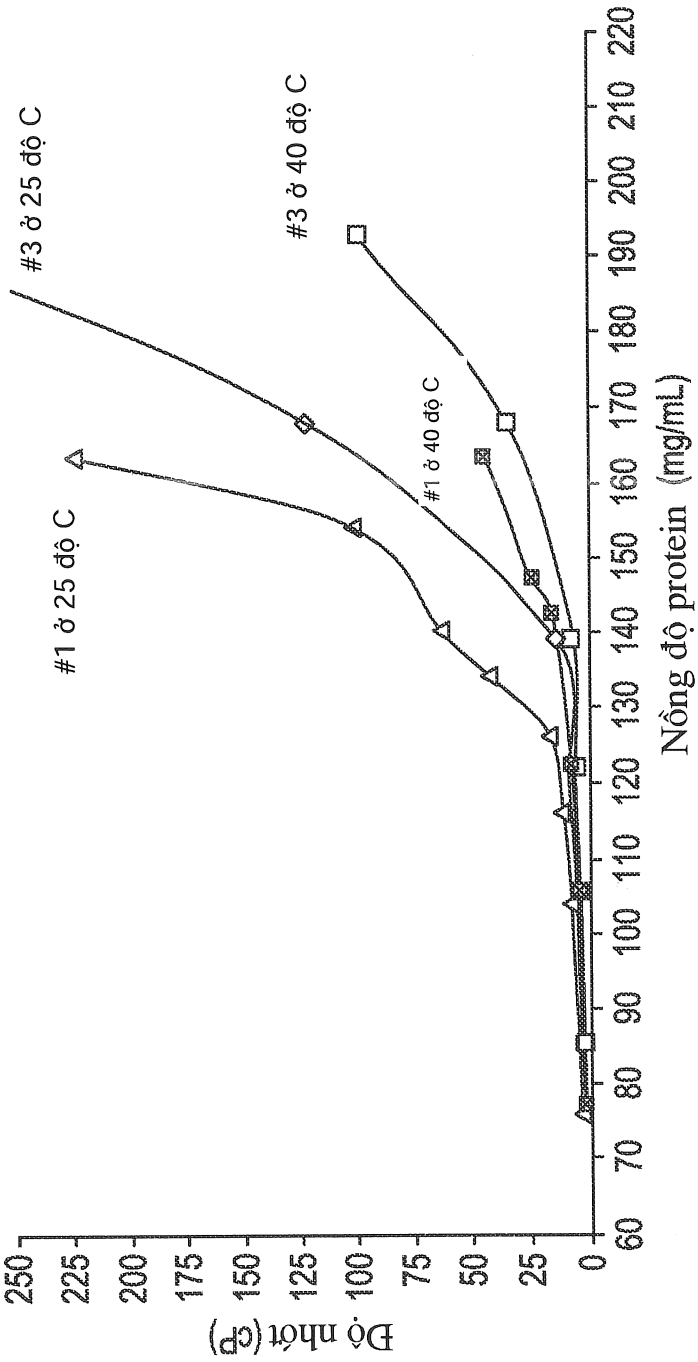

#3 ở 25 độ C
#3 ở 40 độ C
#1 ở 40 độ C
#1 ở 25 độ C
Độ nhớt (cP)
Nồng độ protein (mg/mL)
250
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220

Fig.28D

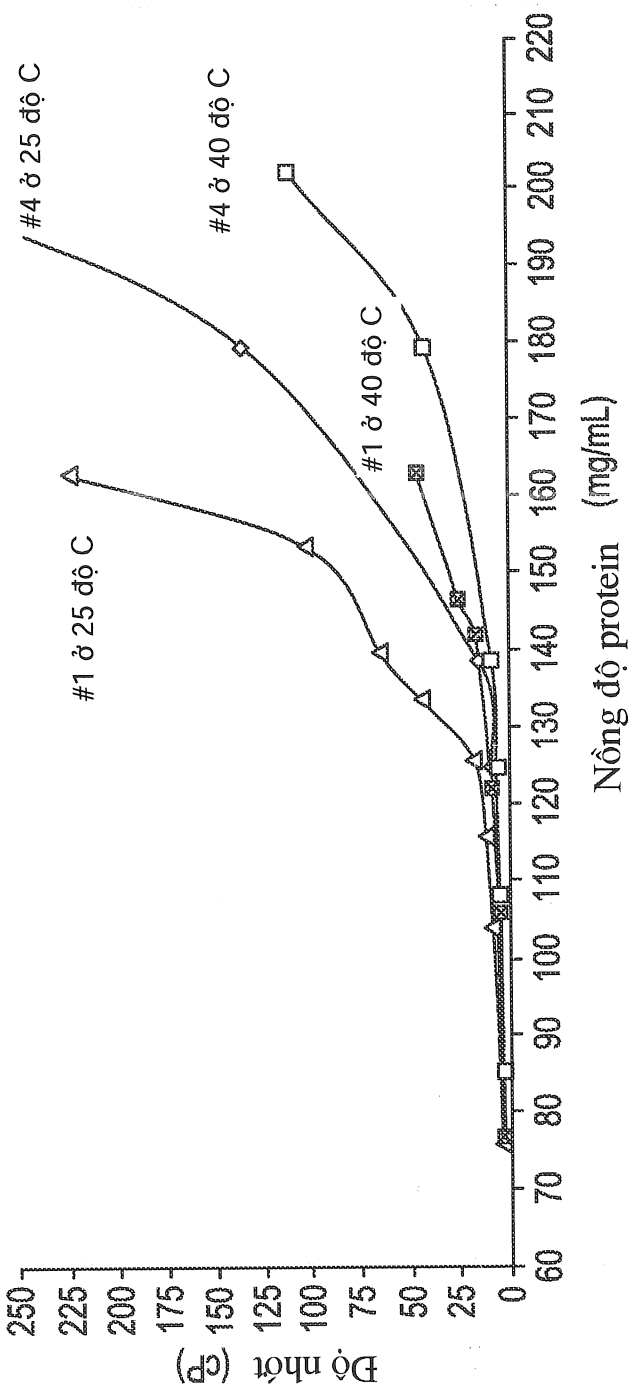
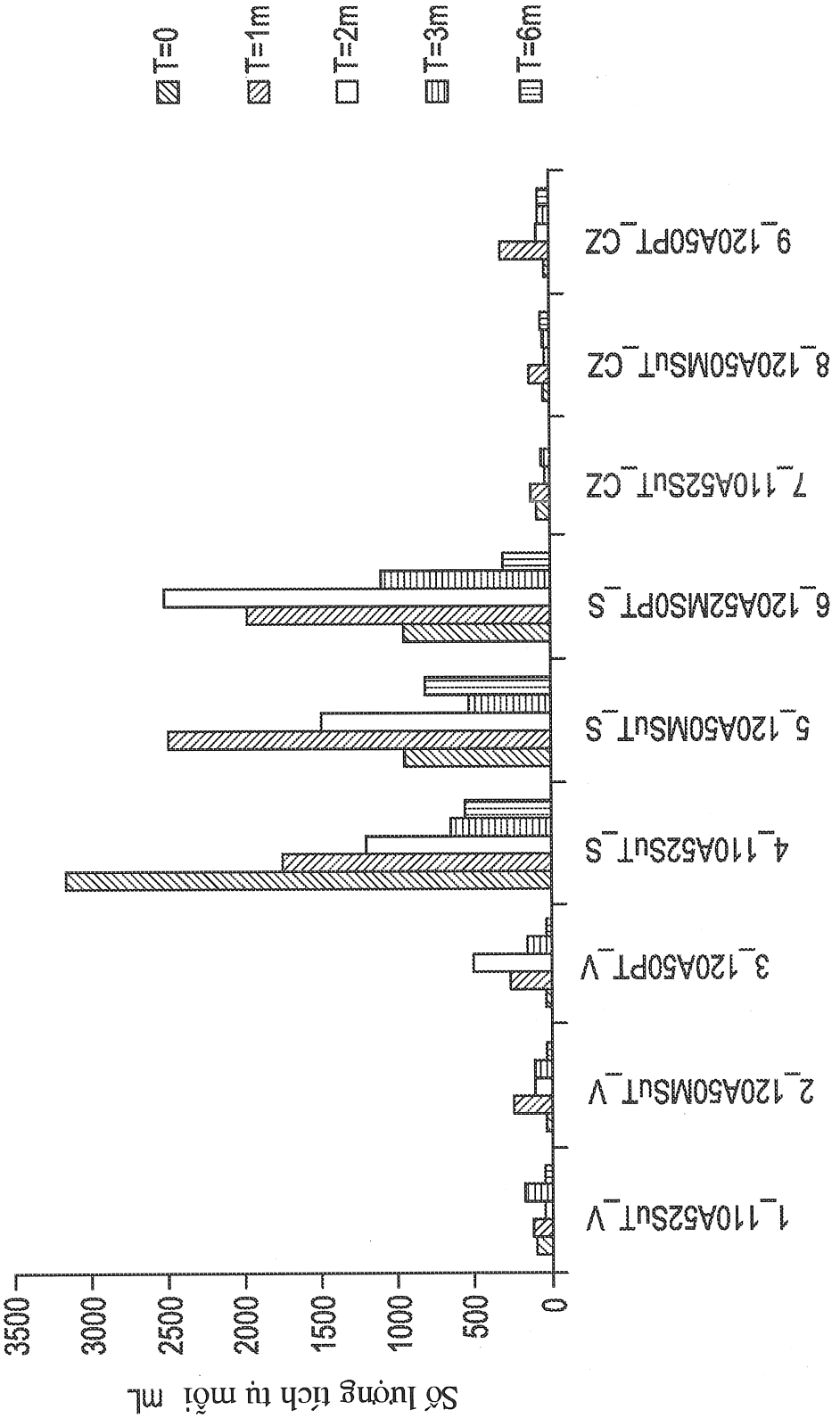

#4 ở 25 độ C
#4 ở 40 độ C
#1 ở 40 độ C
#1 ở 25 độ C
Độ nhớt (cP)
Nồng độ protein (mg/mL)
250
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220

Fig. 29A


T=0
T=1m
T=2m
T=3m
T=6m
Số lượng tích tụ mỗi mL
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
1_110A52SuT_V
2_120A50MSuT_V
3_120A50PT_V
4_110A52SuT_S
5_120A50MSuT_S
6_120A52MS0PT_S
7_110A52SuT_CZ
8_120A50MSuT_CZ
9_120A50PT_CZ
Chế phẩm

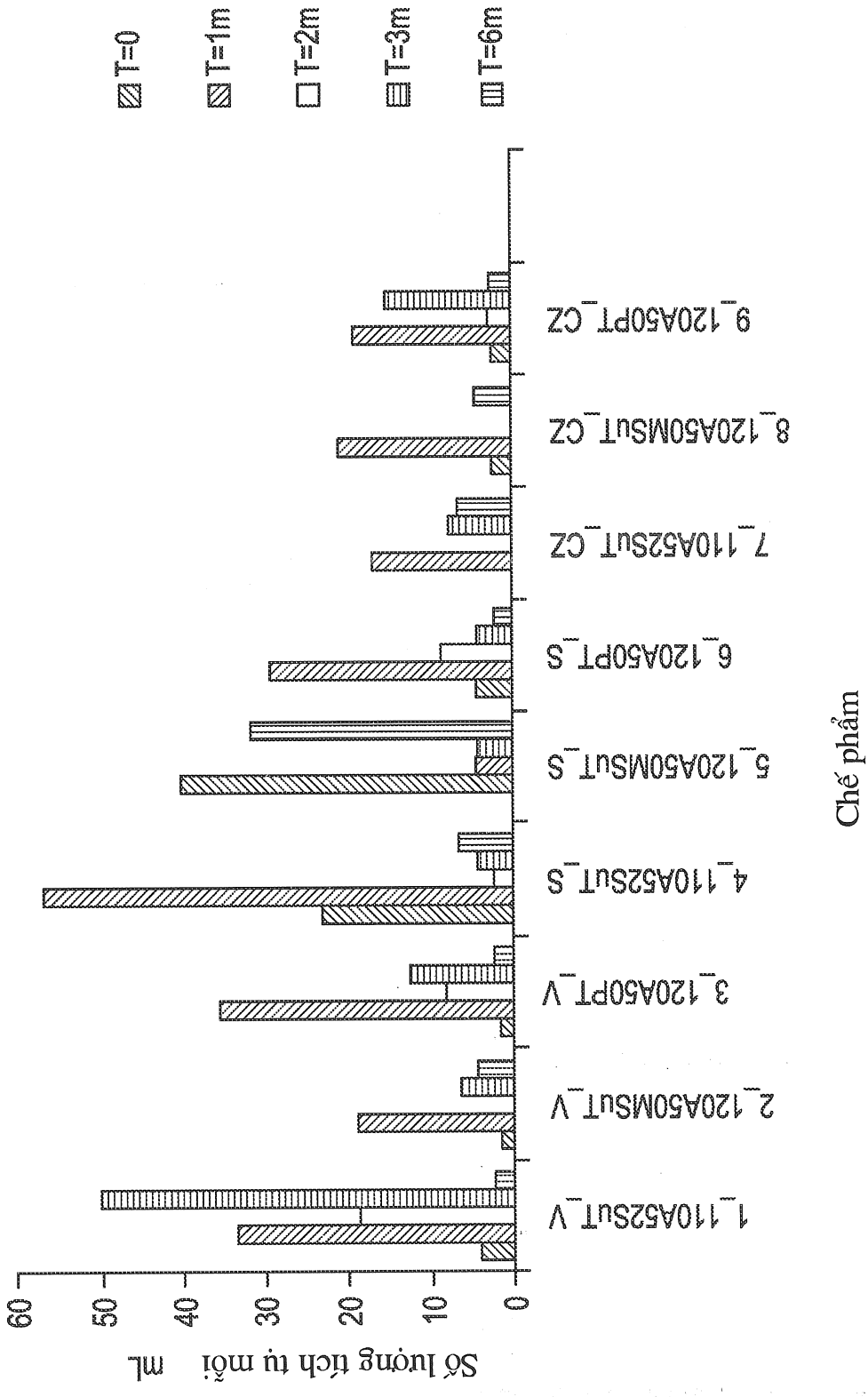

T=0
T=1m
T=2m
T=3m
T=6m
Số lượng tích tụ mỗi mL
0
10
20
30
40
50
60
1_110A52SuT_V
2_120A50MSuT_V
3_120A50PT_V
4_110A52SuT_S
5_120A50MSuT_S
6_120A50PT_S
7_110A52SuT_CZ
8_120A50MSuT_CZ
9_120A50PT_CZ
Chế phẩm

Fig. 29B

Fig. 30A

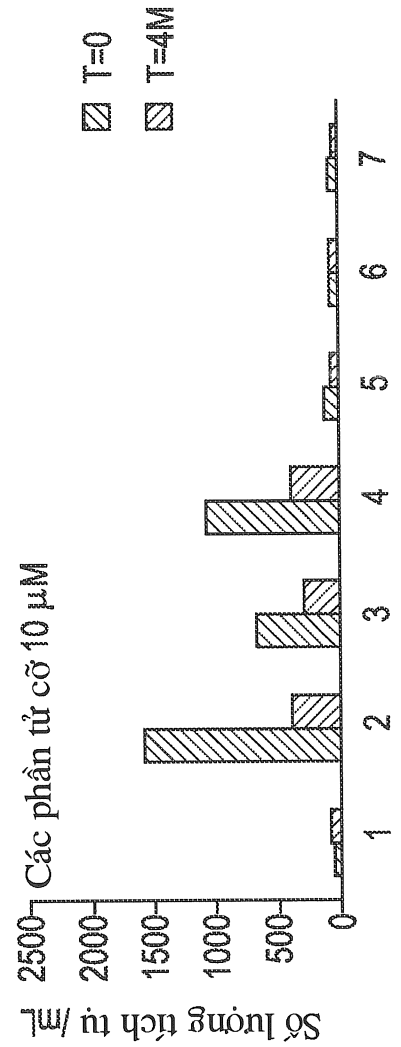

T=0
T=4M
Các phần tử cỡ 10 µM
Số lượng tích tụ /mL
2500
2000
1500
1000
500
0
1
2
3
4
5
6
7

Fig. 30B

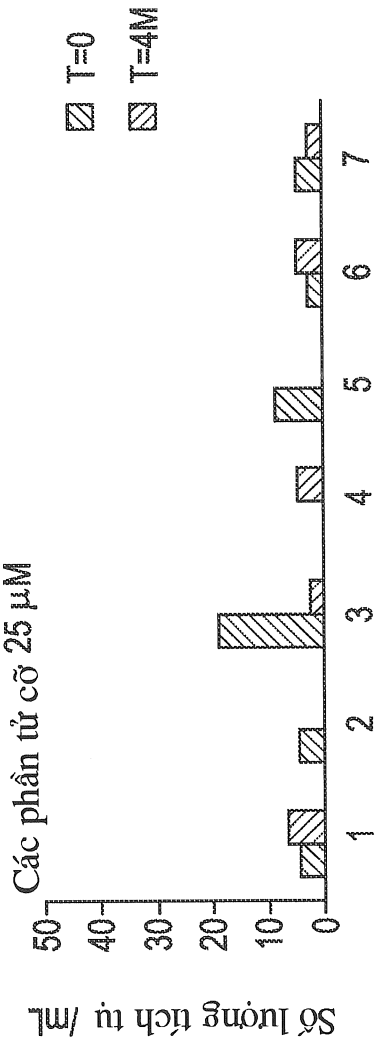

T=0
T=4M
Các phần tử cỡ 25 µM
Số lượng tích tụ /mL
0
10
20
30
40
50
1
2
3
4
5
6
7

Fig. 31

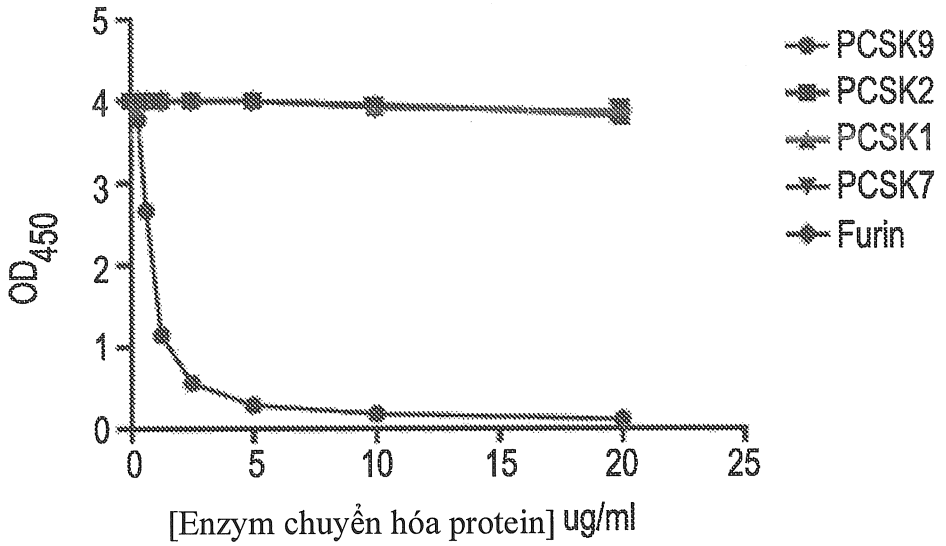

5
4
3
2
1
0
OD_{450}
0
5
10
15
20
25
[Enzym chuyển hóa protein] ug/ml
PCSK9
PCSK2
PCSK1
PCSK7
Furin

Fig. 32

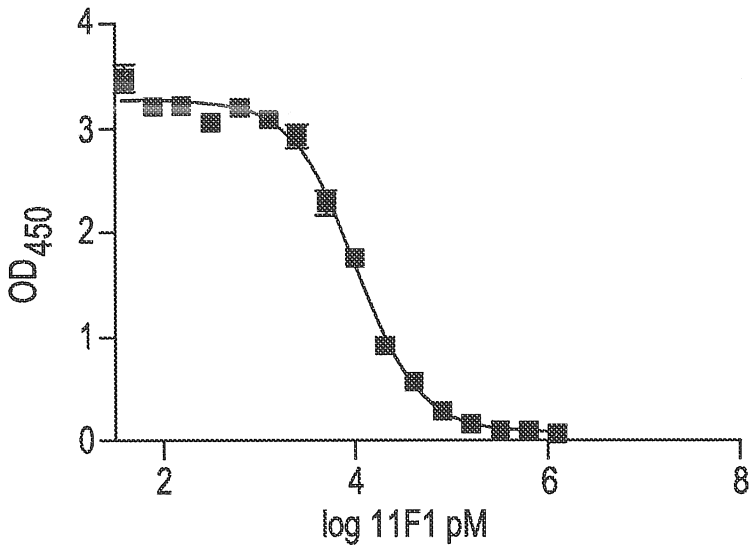


Fig. 33

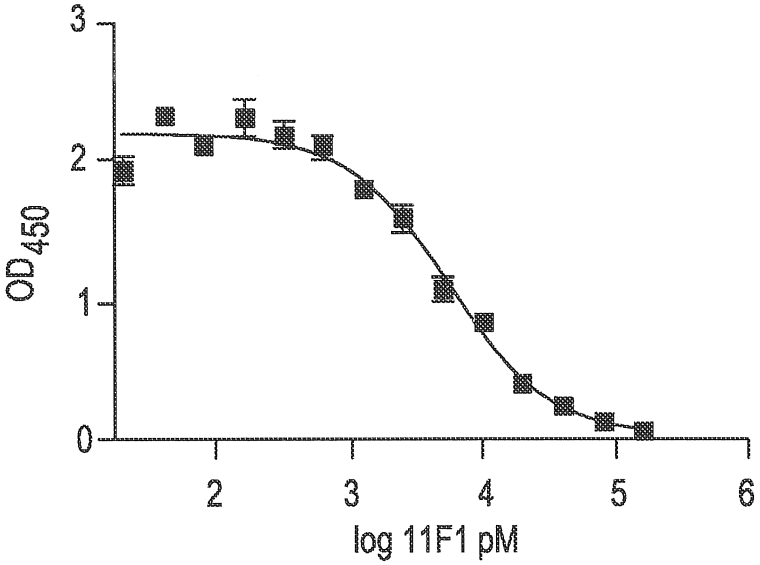


Fig. 34

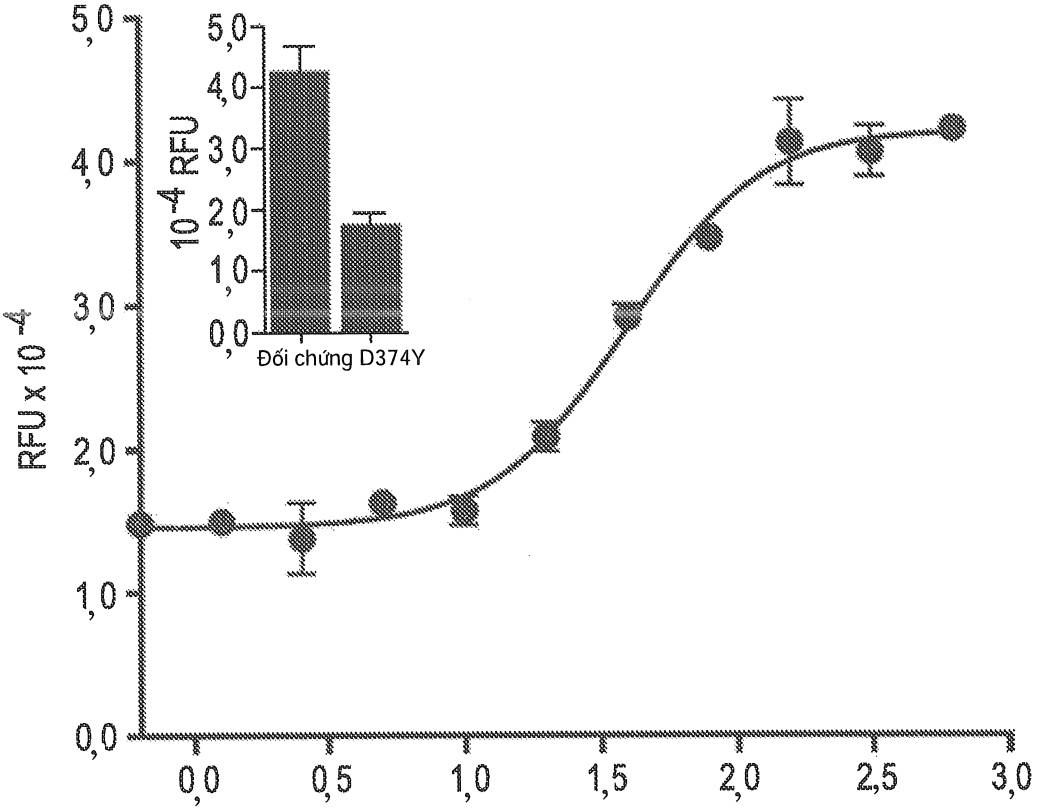

RFU x 10^{-4}
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
0,0
0,5
1,0
1,5
2,0
2,5
3,0
10^{-4} RFU
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
Đối chứng
D374Y

Fig. 35

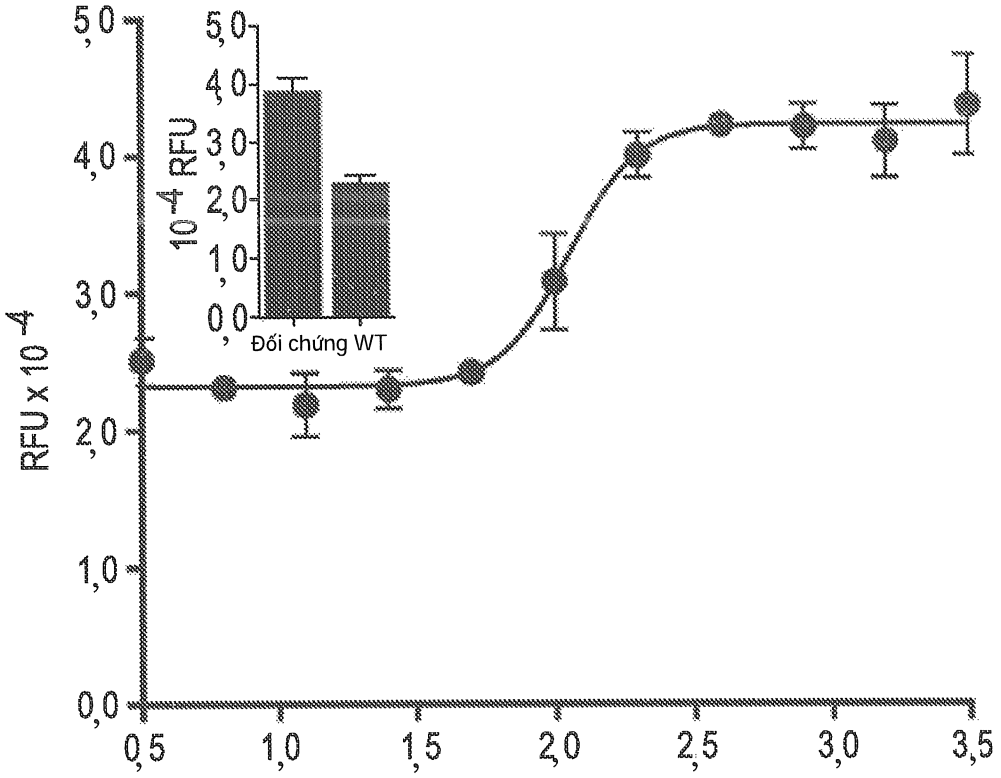

RFU x 10 -4
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
0,5
1,0
1,5
2,0
2,5
3,0
3,5
10 -4 RFU
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
Đối chứng WT

Fig. 36

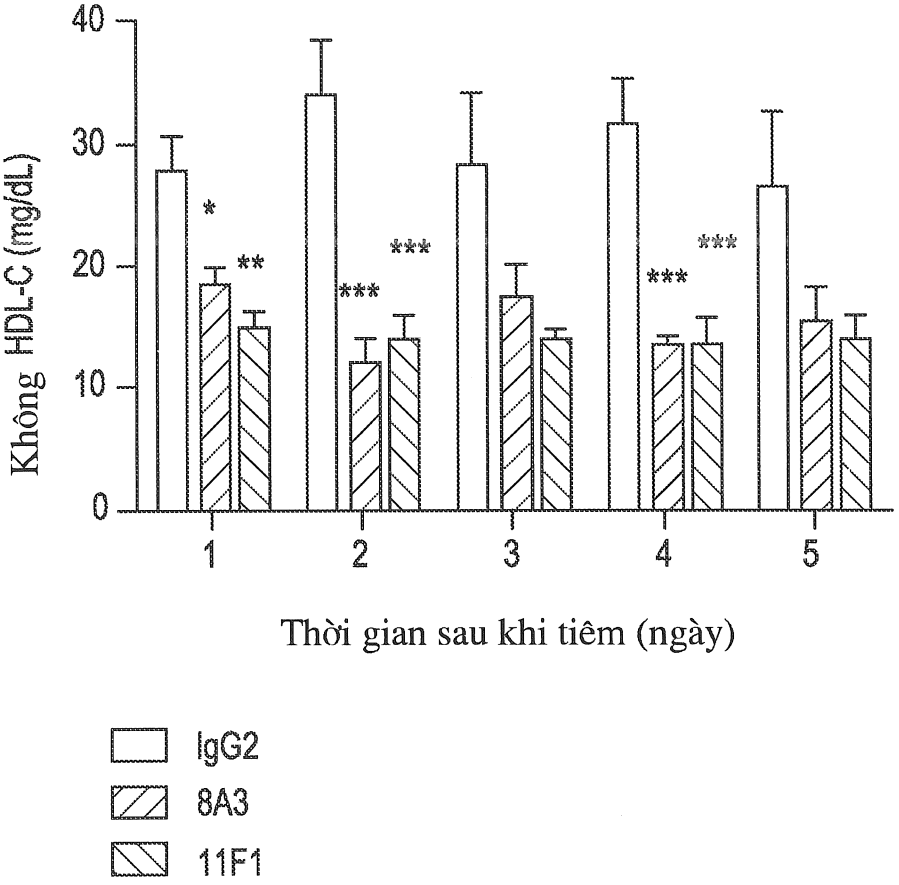

40
30
20
10
0
Không HDL-C (mg/dL)
*
**
***
***
***
***
1
2
3
4
5
Thời gian sau khi tiêm (ngày)
IgG2
8A3
11F1

Fig. 37

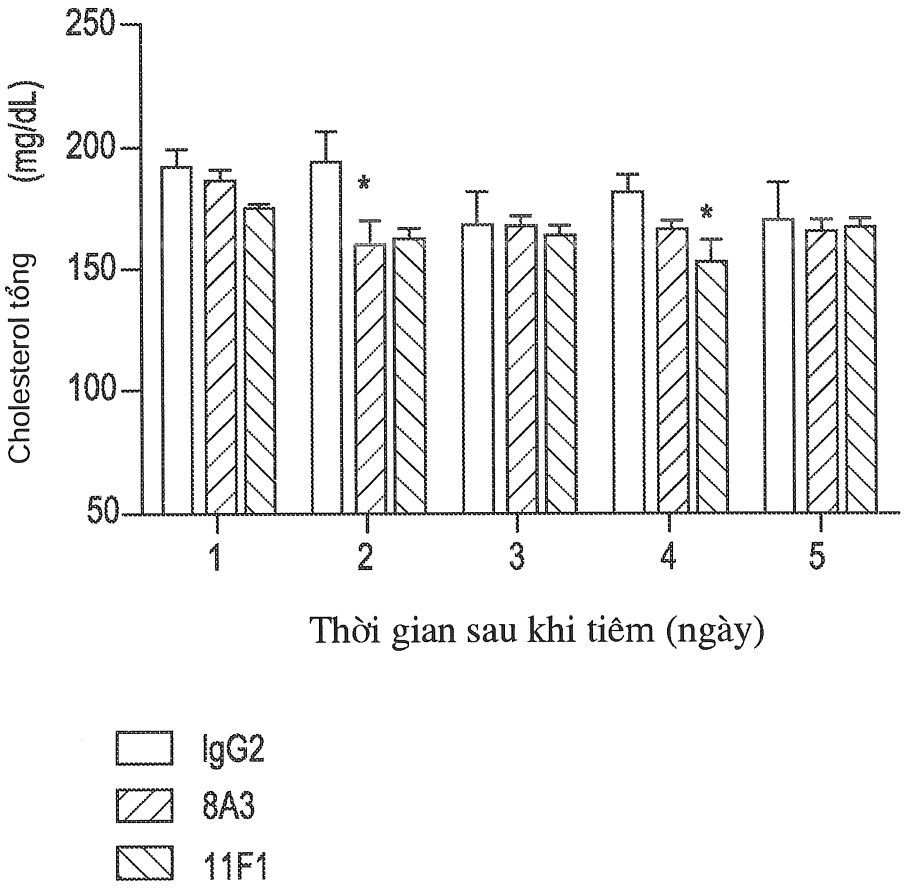

250
200
150
100
50
Cholesterol tổng (mg/dL)
*
*
1
2
3
4
5
Thời gian sau khi tiêm (ngày)
IgG2
8A3
11F1

Fig. 38

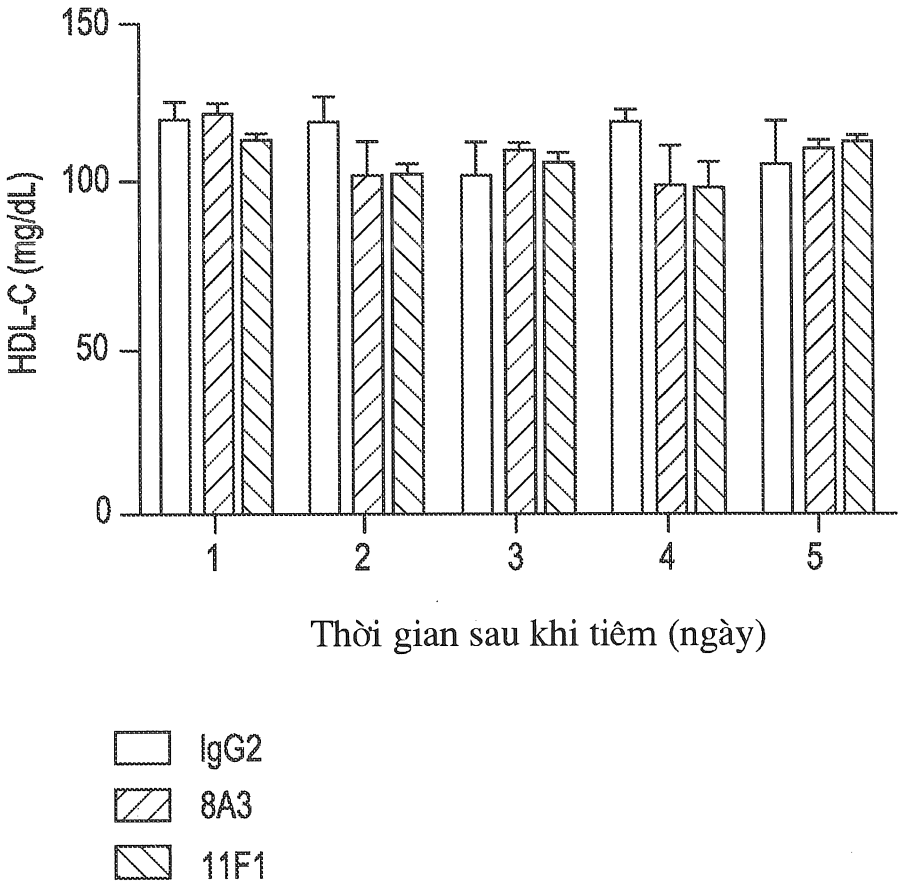

150
100
50
0
HDL-C (mg/dL)
1
2
3
4
5
Thời gian sau khi tiêm (ngày)
IgG2
8A3
11F1

Fig. 39

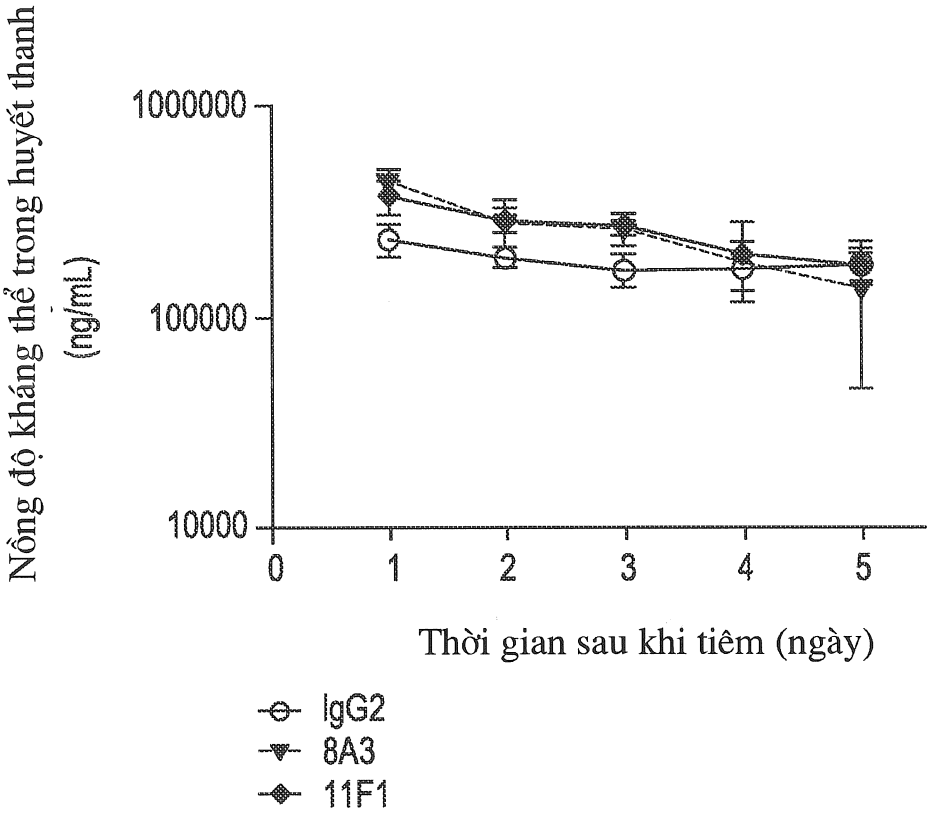

Nồng độ kháng thể trong huyết thanh
(ng/mL)
1000000
100000
10000
0
1
2
3
4
5
Thời gian sau khi tiêm (ngày)
IgG2
8A3
11F1

Fig. 40

Kháng thể	AUC_{0-t} (µg· giờ/mL)	CL_{0-t} (mL/giờ/kg)	$t_{1/2}$ biểu kiến (giờ)
IgG2	23.500	0,511	>120
11F1	34.700	0,865	83
8A3	36.700	0,817	59

Fig. 41

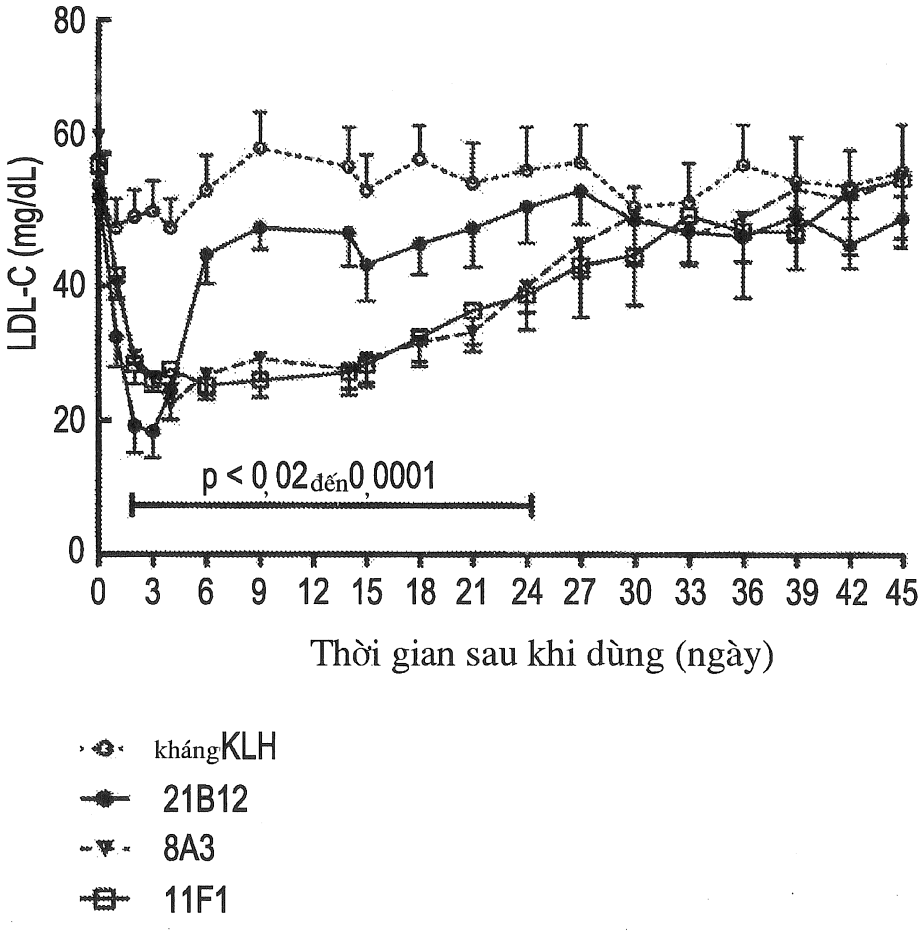

80
60
40
20
0
LDL-C (mg/dL)
p < 0,02 đến 0,0001
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
Thời gian sau khi dùng (ngày)
kháng KLH
21B12
8A3
11F1

Fig. 42

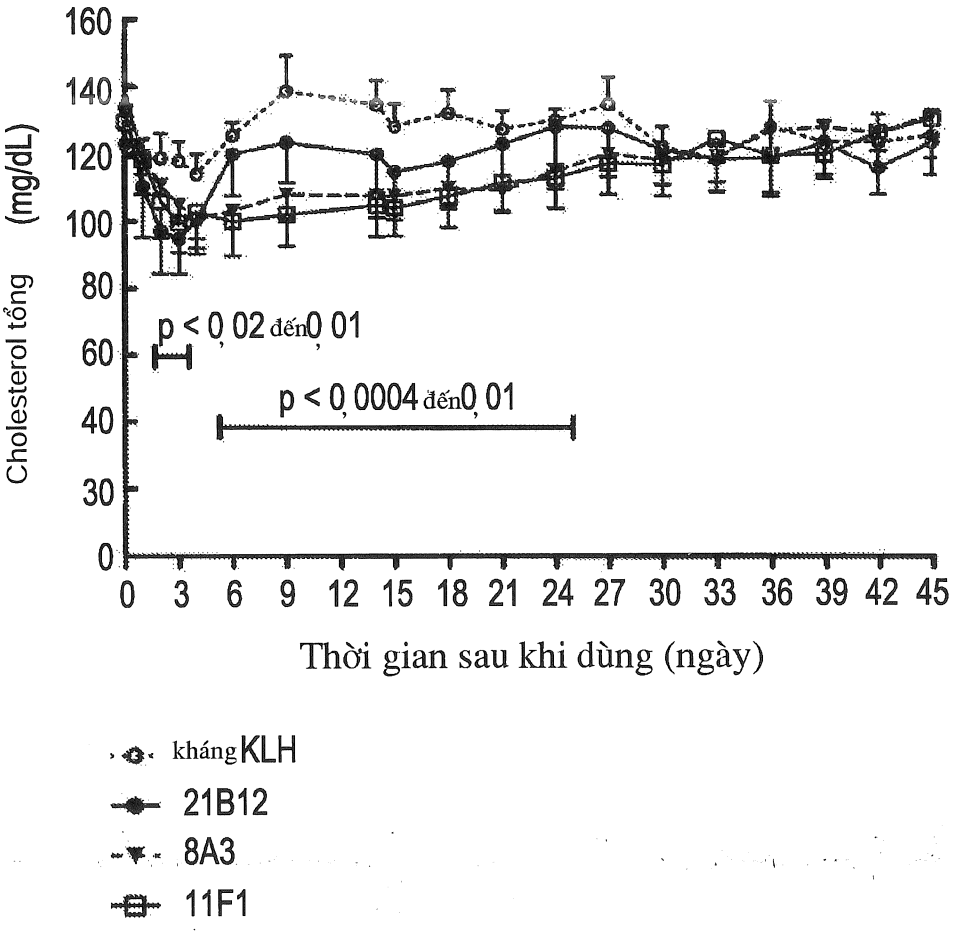

Cholesterol tổng (mg/dL)
160
140
120
100
80
60
40
30
0
p < 0,02 đến 0,01
p < 0,0004 đến 0,01
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
Thời gian sau khi dùng (ngày)
kháng KLH
21B12
8A3
11F1

Fig. 43

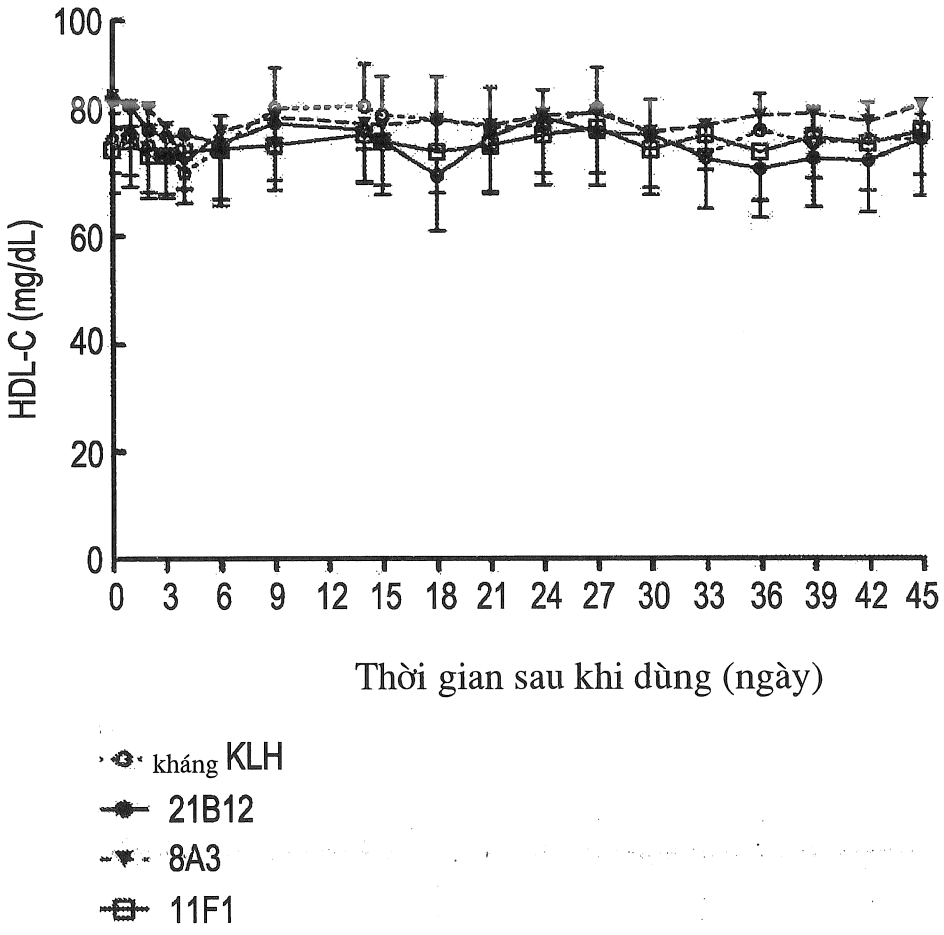

100
80
60
40
20
0
HDL-C (mg/dL)
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
Thời gian sau khi dùng (ngày)
kháng KLH
21B12
8A3
11F1

Fig. 44

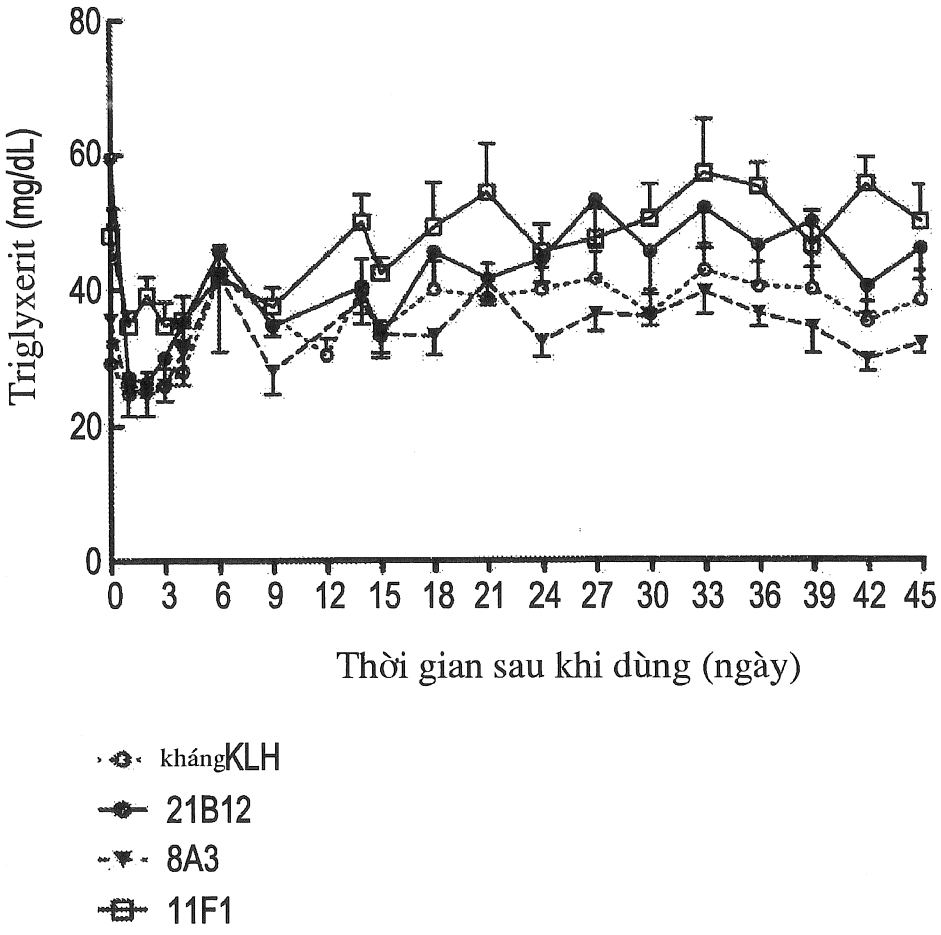

80
60
40
20
0
Triglyxerit (mg/dL)
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
Thời gian sau khi dùng (ngày)
kháng KLH
21B12
8A3
11F1

Fig. 45

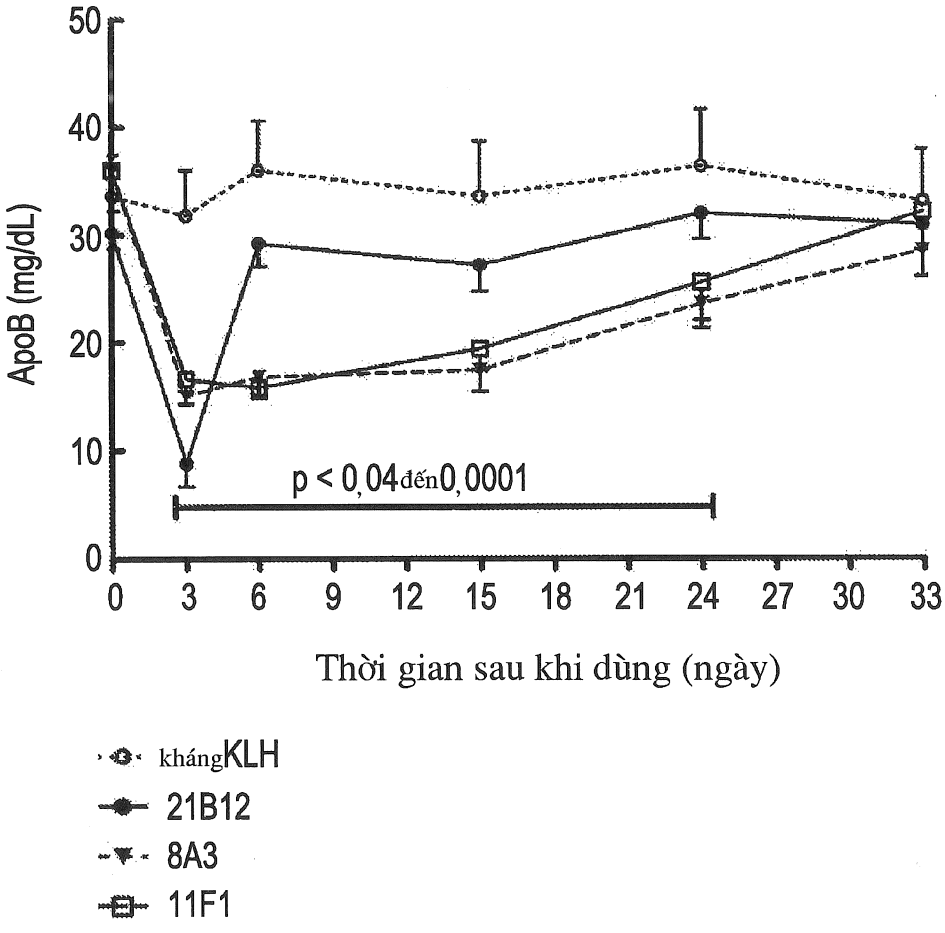

50
40
30
20
10
0
ApoB (mg/dL)
p < 0,04 đến 0,0001
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
Thời gian sau khi dùng (ngày)
kháng KLH
21B12
8A3
11F1

Fig. 46

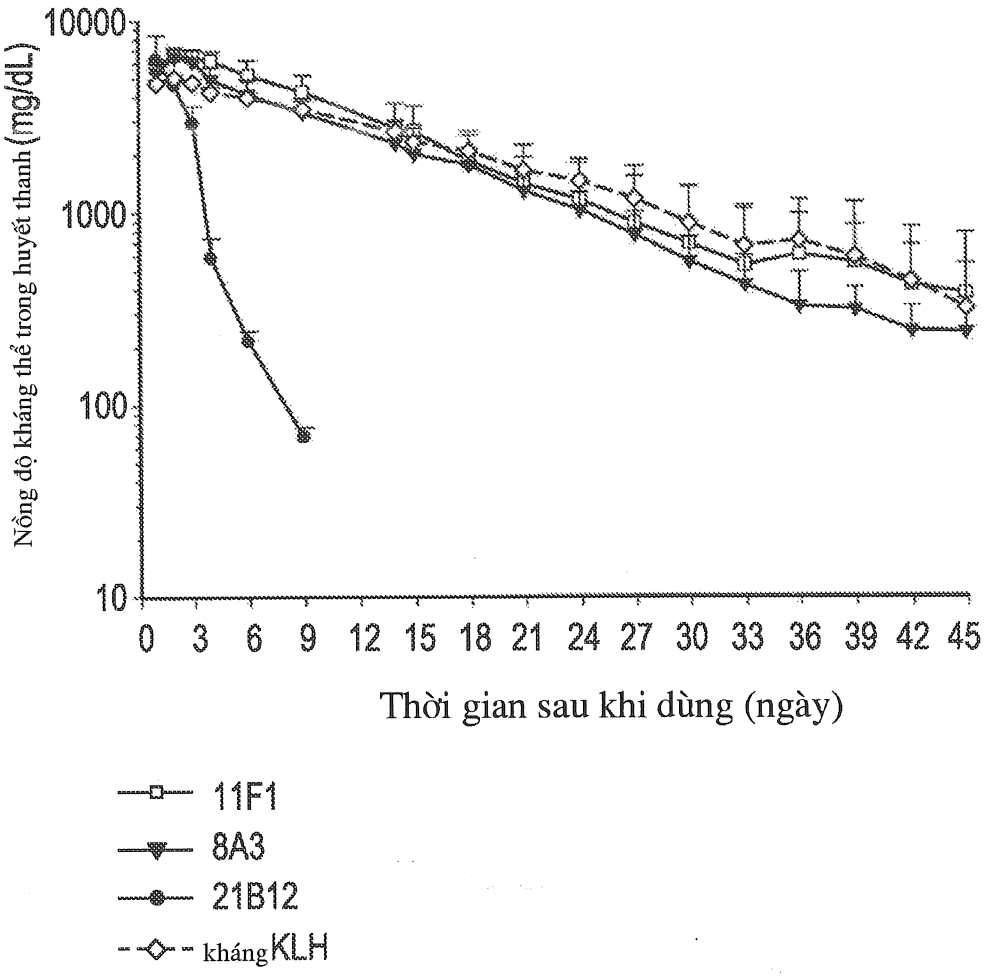

10000
1000
100
10
Nồng độ kháng thể trong huyết thanh (mg/dL)
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
Thời gian sau khi dùng (ngày)
11F1
8A3
21B12
kháng KLH

Fig. 47

Các thông số dược động học trung bình (± SD)				
Kháng thể	$t_{1/2,z}$ (giờ)	CL/F (mL/giờ/kg)	Cmax (µg/mL)	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (µg* giờ/mL)
KhángKLH	220 ± 130	0,234 ± 0,036	5,08 ± 0,15	2.170 ± 320
21B12	40 ± 6	1,57 ± 0,68	6,22 ± 2,21	355 ± 109
11F1	210 ± 110	0,228 ± 0,081	6,72 ± 0,62	2.440 ± 910
8A3	190 ± 40	0,255 ± 0,039	6,63 ± 0,66	1.990 ± 290

Fig. 48A

So sánh trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ và trình tự liên ứng

(HCDR1, HCDR2 và HCDR3 được gạch chân):

8A1: Trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:485); LCDR1 (SEQ ID NO:503); LCDR2 (SEQ ID NO:504); LCDR3 (SEQ ID NO:558)

8A3: Trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:461); LCDR1 (SEQ ID NO:503); LCDR2 (SEQ ID NO:4); LCDR3 (SEQ ID NO:558)

11F1: Trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:465); LCDR1 (SEQ ID NO:503)); LCDR2 (SEQ ID NO:504); LCDR3 (SEQ ID NO:505)

Trình tự liên ứng : Trình tự thay đổi của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:582); LCDR1 (SEQ ID NO:503); LCDR2 (SEQ ID NO:504); LCDR3 (SEQ ID NO:584)

8A1: 1-DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA

8A3: 1-DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA

11F1: 1-DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA

Trình tự liên ứng : 1-DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGNNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA

8A1: SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK-112 (SEQ ID NO:485)

8A3: SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK-112 (SEQ ID NO:461)

11F1: SGVPDRFSGSGSGTHLTLKISRVEAEDVGVYYCMQTLQTPLTFGGGTKVEIK-112 (SEQ ID NO:465)

Trình tự liên ứng : SGVPDRFSGSGSGTX_1X_2TLKISRVEAEDVGVYYCMQX_3LQTPLTFGGGTKVEIK-112 (SEQ ID NO:582)

X_1 là H hoặc D; X_2 là F hoặc L; và X_3 là T hoặc A

Fig. 48B

So sánh trình tự thay đổi của chuỗi nặng và trình tự liên ứng

(HCDR1, HCDR2 và HCDR3 được gạch chân):

8A1: Trình tự thay đổi của chuỗi nặng (SEQ ID NO:459); HCDR1 (SEQ ID NO:513); HCDR2 (SEQ ID NO:528); HCDR3 (SEQ ID NO:534)

8A3: Trình tự thay đổi của chuỗi nặng (SEQ ID NO:461); HCDR1 (SEQ ID NO:)); HCDR2 (SEQ ID NO:501); HCDR3 (SEQ ID NO:502)

11F1: Trình tự thay đổi của chuỗi nặng (SEQ ID NO:463); HCDR1 (SEQ ID NO:)); HCDR2 (SEQ ID NO:501); HCDR3 (SEQ ID NO:502)

Trình tự liên ứng : Trình tự thay đổi của chuỗi nặng (SEQ ID NO:583); HCDR1 (SEQ ID NO:585); HCDR2 (SEQ ID NO:586); HCDR3 (SEQ ID NO:587)

8A3: 1-EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVASIKQDGSEKYY

11F1: 1-EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVASIKQDGSEKYY

8A1: 1-EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMTWVRQAPGKGLEWVASIKQDGSERYY

Trình tự liên ứng : 1-EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSX$_1$YWMX$_2$WVRQAPGKGLEWVASIKQDGSEX$_3$YY

8A3: 61-VDSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLVLMVYDIDYYYYGMDVW

11F1: 61-VDSVKGRFAISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDLVLMVYDIDYYYYGMDVW

8A1: 61-VDSVKGRFTISRDTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPLVLMVYALHYYYYGMDVW

Trình tự liên ứng : 61-VDSVKGRFX$_4$ISRDX$_5$AX$_6$NSLX$_7$LQMNSLRAEDTAVYYCARX$_8$LVLMVYX$_9$X$_{10}$X$_{11}$YYYYGMDVW

8A3: GQGTTVTVSS-127 (SEQ ID NO:459)

11F1: GQGTTVTVSS-127 (SEQ ID NO:463)

8A1: GHGTTVTVSS-127 (SEQ ID NO:483)

Trình tự liên ứng : GX$_{12}$GTTVTVSS-127 (SEQ ID NO:583)

X$_1$ là S hoặc N; X$_2$ là S hoặc T; X$_3$ là K hoặc R; X$_4$ là A hoặc T; X$_5$ là N hoặc T; X$_6$ là K hoặc R; X$_7$ là Y hoặc F; X$_8$ là D hoặc P; X$_9$ là D hoặc A; X$_{10}$ là I hoặc L; X$_{11}$ là D hoặc H; và X$_{12}$ là Q hoặc H

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Chan, Joyce
Gibbs, John
Dias, Clapton
Scott, Robert
Wasserman, Scott
Clogston, Chris
Osslund, Timothy

<120> CHẾ PHẨM DƯỢC ỔN ĐỊNH VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI ENZYM CHUYỂN HÓA PROPROTEIN SUBTILISIN/KEXIN TYP 9 (PCSK9)

<130> A-1635-WO-PCT

<150> 61/642,363
<151> 2012-05-03

<150> 61/614,417
<151> 2012-03-22

<150> 61/595,526
<151> 2012-02-06

<150> 61/562,303
<151> 2011-11-21

<150> 61/484,610
<151> 2011-05-10

<160> 587

<170> FastSEQ cho Windows phiên bản 4.0

<210> 1
<211> 662
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Gln Glu Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg
 1               5                  10                  15
Ser Glu Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala
            20                  25                  30
Thr Phe His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr
        35                  40                  45
Val Val Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr
    50                  55                  60
Ala Arg Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys
65                  70                  75                  80
Ile Leu His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met
                85                  90                  95
Ser Gly Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr
            100                 105                 110
Ile Glu Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu
        115                 120                 125
Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro
    130                 135                 140
Asp Gly Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln
145                 150                 155                 160
Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu
                165                 170                 175
Asn Val Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys
            180                 185                 190
Cys Asp Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp
        195                 200                 205
Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser Met Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn
    210                 215                 220
Cys Gln Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe
225                 230                 235                 240
Ile Arg Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu
                245                 250                 255
Leu Pro Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln
            260                 265                 270
Arg Leu Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Asp Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile
    290                 295                 300
Thr Val Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr
305                 310                 315                 320
Leu Gly Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu
```

```
                325                 330                 335
Asp Ile Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln
            340                 345                 350
Ser Gly Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met
        355                 360                 365
Met Leu Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg
    370                 375                 380
Leu Ile His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Asp Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro
                405                 410                 415
Ser Thr His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser
            420                 425                 430
Ala His Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Ile Ala Arg Cys Ala
        435                 440                 445
Pro Asp Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys
    450                 455                 460
Arg Arg Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg
465                 470                 475                 480
Ala His Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys
                485                 490                 495
Cys Leu Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala
            500                 505                 510
Glu Ala Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val
        515                 520                 525
Leu Thr Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His
    530                 535                 540
Lys Pro Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly
545                 550                 555                 560
His Arg Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu
                565                 570                 575
Glu Cys Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Gly Gln Val
            580                 585                 590
Thr Val Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu
        595                 600                 605
Pro Gly Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys
    610                 615                 620
Val Val Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Glu
625                 630                 635                 640
Ala Val Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln
                645                 650                 655
```

Ala Ser Gln Glu Leu Gln
660

<210> 2
<211> 2076
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 2
atgggcaccg tcagctccag gcggtcctgg tggccgctgc cactgctgct gctgctgctg 60
ctgctcctgg gtcccgcggg cgcccgtgcg caggaggacg aggacggcga ctacgaggag 120
ctggtgctag ccttgcgctc cgaggaggac ggcctggccg aagcacccga gcacggaacc 180
acagccacct tccaccgctg cgccaaggat ccgtggaggt tgcctggcac ctacgtggtg 240
gtgctgaagg aggagaccca cctctcgcag tcagagcgca ctgcccgccg cctgcaggcc 300
caggctgccc gccggggata cctcaccaag atcctgcatg tcttccatgg ccttcttcct 360
ggcttcctgg tgaagatgag tggcgacctg ctggagctgg ccttgaagtt gccccatgtc 420
gactacatcg aggaggactc ctctgtcttt gcccagagca tcccgtggaa cctggagcgg 480
attacccctc cgcggtaccg ggcggatgaa taccagcccc ccgacggagg cagcctggtg 540
gaggtgtatc tcctagacac cagcatacag agtgaccacc gggaaatcga gggcagggtc 600
atggtcaccg acttcgagaa tgtgcccgag gaggacggga cccgcttcca cagacaggcc 660
agcaagtgtg acagtcatgg cacccacctg gcaggggtgg tcagcggccg ggatgccggc 720
gtggccaagg gtgccagcat gcgcagcctg cgcgtgctca actgccaagg gaagggcacg 780
gttagcggca ccctcatagg cctggagttt attcggaaaa gccagctggt ccagcctgtg 840
gggccactgg tggtgctgct gcccctggcg ggtgggtaca gccgcgtcct caacgccgcc 900
tgccagcgcc tggcgaggggc tggggtcgtg ctggtcaccg ctgccggcaa cttccgggac 960
gatgcctgcc tctactcccc agcctcagct cccgaggtca tcacagttgg ggccaccaat 1020
gcccaggacc agccggtgac cctggggact ttggggacca actttggccg ctgtgtggac 1080
ctctttgccc caggggagga catcattggt gcctccagcg actgcagcac ctgctttgtg 1140
tcacagagtg ggacatcaca ggctgctgcc cacgtggctg gcattgcagc catgatgctg 1200
tctgccgagc cggagctcac cctggccgag ttgaggcaga gactgatcca cttctctgcc 1260
aaagatgtca tcaatgaggc ctggttccct gaggaccagc gggtactgac ccccaacctg 1320
gtggccgccc tgcccccccag cacccatggg gcaggttggc agctgttttg caggactgtg 1380
tggtcagcac actcggggcc tacacggatg gccacagcca tcgcccgctg cgccccagat 1440
gaggagctgc tgagctgctc cagtttctcc aggagtggga agcggcgggg cgagcgcatg 1500
gaggcccaag ggggcaagct ggtctgccgg gcccacaacg cttttggggg tgagggtgtc 1560
tacgccattg ccaggtgctg cctgctaccc caggccaact gcagcgtcca cacagctcca 1620
ccagctgagg ccagcatggg gacccgtgtc cactgccacc aacagggcca cgtcctcaca 1680
ggctgcagct cccactggga ggtggaggac cttggcaccc acaagccgcc tgtgctgagg 1740
ccacgaggtc agcccaacca gtgcgtgggc cacagggagg ccagcatcca cgcttcctgc 1800
tgccatgccc caggtctgga atgcaaagtc aaggagcatg gaatcccggc ccctcagggg 1860

caggtgaccg tggcctgcga ggagggctgg accctgactg gctgcagcgc cctccctggg 1920
acctcccacg tcctgggggc ctacgccgta gacaacacgt gtgtagtcag gagccgggac 1980
gtcagcacta caggcagcac cagcgaagag gccgtgacag ccgttgccat ctgctgccgg 2040
agccggcacc tggcgcaggc ctcccaggag ctccag 2076

<210> 3
<211> 692
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

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

```
Val Ala Lys Gly Ala Ser Met Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
                245                 250                 255
Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe Ile Arg
            260                 265                 270
Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro
        275                 280                 285
Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu
    290                 295                 300
Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp
305                 310                 315                 320
Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val
                325                 330                 335
Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly
            340                 345                 350
Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile
        355                 360                 365
Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln Ser Gly
    370                 375                 380
Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu
385                 390                 395                 400
Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile
                405                 410                 415
His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp
            420                 425                 430
Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr
        435                 440                 445
His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His
    450                 455                 460
Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Ile Ala Arg Cys Ala Pro Asp
465                 470                 475                 480
Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg
                485                 490                 495
Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg Ala His
            500                 505                 510
Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
        515                 520                 525
Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ala
    530                 535                 540
Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
545                 550                 555                 560
Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
```

```
                565                 570                 575
Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
            580                 585                 590
Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
        595                 600                 605
Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Gly Gln Val Thr Val
    610                 615                 620
Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu Pro Gly
625                 630                 635                 640
Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
                645                 650                 655
Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Glu Ala Val
            660                 665                 670
Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser
        675                 680                 685
Gln Glu Leu Gln
    690
```

<210> 4
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

<210> 5
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Pro Pro Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20   25   30
Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35   40   45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser His Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50   55   60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
65   70   75   80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Val
                85   90   95
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
            100   105   110

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
            20   25   30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
                85   90   95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Ile Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9
Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Tyr Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

```
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Ile
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

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

<210> 12
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

```
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1               5                  10                  15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
            20                  25                  30
```

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

<210> 13
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala His
20 25 30
Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Tyr Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asn Ser
85 90 95
Leu Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 14
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

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

<210> 15
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

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

<210> 16
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

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

<210> 17
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

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

<210> 18

<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
            20   25   30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
        35   40   45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65   70   75   80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
                85   90   95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Ala Val Leu
            100   105

<210> 19
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
            20   25   30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
        35   40   45
Lys Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65   70   75   80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
                85   90   95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 20
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 21
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr

```
                85                  90                  95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 22
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

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

<210> 23
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 24
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95
Asn Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 25
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

```
        35                  40                  45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65                  70                  75                  80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
                85                  90                  95
Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 26
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

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

<210> 27
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

```
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 28
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

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

<210> 29
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

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

<210> 30
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

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

<210> 31
<211> 109

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Pro Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
            20   25   30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65   70   75   80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
                85   90   95
Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 32
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
            20   25   30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65   70   75   80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu
                85   90   95
Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105   110

<210> 33
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys
            20   25   30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65   70   75   80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
                85   90   95
Asn Trp Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 34
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
            20   25   30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65   70   75   80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
                85   90   95

```
Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
        100                 105                 110
```

<210> 35
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

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

<210> 36
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

```
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1               5                  10                  15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
            20                  25                  30
Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35                  40                  45
Ile Tyr Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
```

65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Arg Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ser Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Arg Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 38
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Arg Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 39
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Thr Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Arg Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

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

<210> 41
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

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

<210> 42
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

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

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

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

<210> 44
<211> 106
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

<210> 45
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

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

<210> 46
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46
Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Leu Phe Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Ser Tyr Glu
            20   25   30
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
        35   40   45
Arg Val Asp Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Glu Gly Ile Pro
    50   55   60
Asp Arg Phe Ser Val Leu Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr Leu Thr Ile
65   70   75   80
Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
                85   90   95
His Gly Ser Gly Thr Asn Phe Val Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
            100   105   110
Leu Thr Val Leu
        115

<210> 47
<211> 114
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47
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 Ser Tyr
            20   25   30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
    50   55   60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 48
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48
Gln Ile 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 Pro Leu Thr Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
50 55 60
Gln Gly Ser Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 49
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49
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 Leu Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Gly Thr Met Thr Thr Asp Pro Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 50
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

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

<210> 51

<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51
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 Leu Thr Ser Tyr
            20   25   30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
    50   55   60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100   105   110
Val Ser Ser
        115

<210> 52
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
            20   25   30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
    50   55   60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Ser Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95

Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 53
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53
Gln Ile 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 Leu Thr Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 54
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

```
        35                  40                  45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 55
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

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

<210> 56
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

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

<210> 57
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

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

115

<210> 58
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
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 Pro Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Leu
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 59
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59
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 Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 60
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60
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 Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Tyr Thr Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 61
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

<210> 62
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62

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

<210> 63
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asn Trp Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
            100   105   110
Thr Val Ser Ser
        115

<210> 64
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

```
                85                  90                  95
Ala Arg Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 65
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

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

<210> 66
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

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

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

<210> 67
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

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

<210> 68
<211> 112
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

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

<210> 69
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

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

<210> 70
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Lys Val Leu Met Val Tyr Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100   105   110
Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 71
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Lys Phe Val Leu Met Val Tyr Ala Met Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 72
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Lys Phe Val Leu Met Val Tyr Ala Met Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

<210> 74
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

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

<210> 75

<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Ala Ala Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76
Gln Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

```
        35                  40                  45
Ala Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 79
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

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

<210> 80
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

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

<210> 81
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

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

115 120

<210> 82
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ile Ala Val Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp His Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Ile Ala Val Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 84
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

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

<210> 85
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

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

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

<210> 86
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86

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

<210> 87
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1   5   10   15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
            20   25   30
Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
        35   40   45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Asn Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
    50   55   60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65   70   75   80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85   90   95
Cys Ala Arg Glu Asp Thr Ala Met Val Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
            100   105   110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 88
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1   5   10   15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20   25   30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
    50   55   60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65   70   75   80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

```
                85                  90                  95
Arg Gly Gln Leu Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 89
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89

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

<210> 90
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1               5                  10                  15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
            20                  25                  30
```

```
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
        35                  40                  45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
    50                  55                  60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65                  70                  75                  80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 91
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

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

<210> 92
<211> 345
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 92
cagattcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta ccccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag cgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctct 345

<210> 93
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 93
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
tacccaggca aacccccaa actcaagatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 94
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 94
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta caccttaacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg gtcagttttt ataatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag aggcaccatg accacagacc catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctct 345

<210> 95
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 95
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc aattcatata caagcaccag catggtattc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 96
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 96
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta caccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagctttt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctct 345

<210> 97
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 97
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctattcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 98
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 98
cagattcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggtta caccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagctttt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtgc gagaggttac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 99
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 99
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcgtg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctggc cgtccta 327

<210> 100
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 100
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta caccttaacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg gtcagttttt ataatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag aggcaccatg accacagacc catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 101
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 101
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca ctaatcggcc ctcaggggtt 180

tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc aactcatata caagcaccag catggtgttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 102
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 102
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatat ataacagtgg gagcacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagag 300
gatacagcta tggttcctta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 103
<211> 333
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 103
cagtctgtac tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc agggcagag ggtcaccatc 60
tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcacattatg atgtgcactg gtaccagcag 120
gttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca cctatcggcc ctcaggggtc 180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acaacagcct gagtggtgtg 300
gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 104
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 104
caggtgcacc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcaac agctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atctggtctg atggaagtga tgaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagccata 300
gcagccctct actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 105
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 105
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gactataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgcttatgtc 300
ttcggaactg ggaccagggt caccgtccta 330

<210> 106
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 106
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagc agctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggaatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagccata 300
gcagccctct actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 107
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 107
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gactataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagtctgag tggttatgtc 300
ttcggaactg ggaccagggt caccgtccta 330

<210> 108
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 108
caggtgcacc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcaac agctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggtctg atggaagtga taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagccata 300
gcagccctct actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 109
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 109
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagttc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagttc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gactataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag ttcttatgtc 300
ttcggaactg ggaccagggt caccgtccta 330

<210> 110
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 110
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagc agctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggaatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagccata 300

gcagccctct actactacta cggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 111
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 111
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gactataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tggttatgtc 300
ttcggaactg ggaccagggt caccgtccta 330

<210> 112
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 112
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagc agctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggaatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagccata 300
gcagccctct actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 113
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 113
cagtctgtgt tgacgcagcc gcccacagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gactataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ctactgcgga acatgggata gcagcctgag tggttatgtc 300

ttcggaactg ggaccagggt caccgtccta 330

<210> 114
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 114
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagg agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggcatg atggaagtaa tacatactat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggtata 300
gcagtggctt actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 115
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 115
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattttg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacagtaata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggacatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgcttatgtt 300
ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta 330

<210> 116
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 116
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtgataa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaagttt 300
gtactaatgg tgtatgctat gcttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 117
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 117
gacatcctga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcctccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtt cccccatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 118
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 118
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtggtaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaagttt 300
gtactaatgg tgtatgctat gcttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 119
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 119
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctatctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc atctatttaa attggtatca gcagaagcca 120
gggaaagccc cttacctcct gatctatgct gcagccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtg cccccatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 120
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 120
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc actgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cagtttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggaggtga ggagtctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 121
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 121
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aatacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 122
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 122
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta caccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgttt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagctga ggagcctgag ctctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 123

<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 123
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctattcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 124
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 124
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta ccccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagttga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 125
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 125
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aatacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 126
<211> 345
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 126
caggttcagt tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cgccttgacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 127
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 127
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccaacag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcagggatt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 128
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 128
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cagctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg gtcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggaactga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
gttatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 129
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 129
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtt tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt gcttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aagcccccaa acgcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcatata caagcaccaa catggtattc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 130
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 130
caggtacagt tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct agcaacagtg ctgcttggaa ctggatcagg 120
cagtccccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggtat 180
aaaaattatt cagtatctgt gaaaagtcga ataaccatca acccagacac atccaagaac 240
cagttctctc tgcaactgaa ctctgtgact cccggggaca cggctgtgta ttactgtgca 300
agaggggggc caactgctgc ttttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 131
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 131
ctttctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgatgttggg aattataacc ttgtctcctg gtaccaacag 120
tattcaggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaagcggcc tcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacaat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc tgctcatatg caggtagtag cactttggtt 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 132
<211> 357
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 132

gaggtgcagt tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGTC cctgagactc 60
tcctgtgtag tctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagagagtca 300
aactggggat ttgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 133
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 133
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaagactg taaactggta ccaacaggtc 120
ccaggaacgg ccccCaaact cctcatctat aggaataatc agcggccctt aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttattgtgca gcatgggatg acagcctgaa ttgggtgttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 134
<211> 357
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 134
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggGTC cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt cgctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcatg atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagtca 300
aactggggat ttgcttttga tgtctggggc cacgggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 135
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 135
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggcccc ccggacagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaatactg taaactggta ccagcagctc 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc ggcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa ttgggtgttc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 136
<211> 351
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 136
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtggtag gacatattac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagaagtt 300
ggcagtccct ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

<210> 137
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 137
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcaactc caacattggg aataattatg tatcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa ctctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctgtggta 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 138
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 138
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240

cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggaggggg 300
ggtctggcag ctcgtccggg cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 139
<211> 318
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 139
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tctgtgtccc caggacagac agccagaatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaaaccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaaaat accaagtggc ccttagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaagtctgg gaacacagtc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt cggcggaggg 300
accaagctga ccgtccta 318

<210> 140
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 140
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtagtgatt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgaattacc atatcagtag acacgtctaa gaacctgttc 240
tccctgaagt tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaggg 300
ggggtgacta cgtactacta cgctatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 141
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 141
gacatacaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gcgcattagc aactatttaa gttggtatct gcagaaacca 120
gggattgccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaatct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctcat tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 142
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 142
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtga taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagact 300
ggtcccttga aactctacta ctacggtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 143
<211> 336
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 143
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccgccctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaactt tttgaattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctcctgatct atttgggttc tcatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actggaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagttct acaaactcca 300
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaa 336

<210> 144
<211> 357
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 144
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact cacctttagt aacttttgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attcctgtac gagagagtca 300

aactggggat ttgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 145
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 145
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaaaactg taaactggta ccagcagttc 120
ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc ggcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa ttgggtgttc 300
ggcgcaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 146
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 146
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagagggtat 300
actcgggact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 147
<211> 348
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 147
cagcctgtgc tgactcagcc acttttgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
acctgcaccc tgagcagcgg ctacagtagt tatgaagtgg actggtatca gcagagacca 120
gggaagggcc cccggtttgt catgcgagtg gacactggtg ggattgtggg atccaagggg 180
gaaggcatcc ctgatcgctt ctcagttttg ggctcaggcc tgaatcggta tctgaccatc 240
aagaacatcc aggaagagga tgagagtgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg 300
accaacttcg tggtggtatt cggcggaggg accaagctga ccgtccta 348

<210> 148
<211> 348
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 148
caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt gcgtactact ggaactggat ccgccagccc 120
ccagggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagaac cgactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaagca gttctccctg 240
aagctgaact ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agggcagctc 300
gtccccttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcttca 348

<210> 149
<211> 330
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 149
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaatactg taaattggta tcagcaactc 120
ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gtatgggatg acagcctgaa tggttgggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 150
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 150
caggttcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacctttccc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcagagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggaggtga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt tttactgtgc gagaggctac 300
gttatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctct 345

<210> 151
<211> 327

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 151
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt cgttataatt ctgtctcctg gtaccaacac 120
cacccaggca aagcccccaa agtcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctactcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcatata caagcagcag cgttgtattc 300
ggcggaggga ccaaactgac cgtccta 327

<210> 152
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 152
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggGtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtagta gtagtagtta catttcctac 180
gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt atttctgtgc gagagattac 300
gatttttgga gtgcttacta tgatgctttt gatgtctggg gccaagggac aatggtcacc 360
gtctcttca 369

<210> 153
<211> 333
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 153
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcag 120
cttccaggaa cagccccaa actcctcatc tctggtaaca gcaatcggcc ctcaggggtc 180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttcg 300
gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 154
<211> 326
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1               5                  10                  15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
        115                 120                 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300
```

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 155
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 155
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 156
<211> 105
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 156
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30
Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95
Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 157
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 157
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 158
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 158
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 159
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 159
Thr Gly Thr Asn Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 160
<211> 14
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Ser Val Ser
 1   5   10

<210> 161
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 161
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr Asn Ser Val Ser
 1   5   10

<210> 162
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 162
Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
 1   5

<210> 163
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 163
Glu Val Thr Asn Arg Pro Ser
 1   5

<210> 164
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 164
Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 165
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 165
Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 166
Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Asn Met Val
1 5

<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 167
Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Val Val
1 5

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 168
Gly Tyr Pro Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 169
Gly Tyr Ser Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 170
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 170
Gly Tyr Ala Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 171
Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 172
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 172

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

<210> 173
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 173
Gly Tyr Thr Phe Pro Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 174
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 174
Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 175
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 175
Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 176
<211> 17
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176
Trp Ile Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 177
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 177
Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 178
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 178
Trp Val Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 179
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 179
Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Leu Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 180
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 180
Gly Tyr Gly Met Asp Val
1 5

<210> 181
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 181
Gly Tyr Val Met Asp Val
1 5

<210> 182
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 182
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Phe Val Ser
1 5 10

<210> 183
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 183
Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 184
Asp Ser Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 185
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 185
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Gly Tyr Val
1 5 10

<210> 186
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 186
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val
1 5 10

<210> 187
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 187
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ser Tyr Val
1 5 10

<210> 188
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 188
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His
1 5 10

<210> 189
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 189
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Gly Met His
1 5 10

<210> 190
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 190
Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 191
Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 192
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 192
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 193
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 194
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 194
Leu Ile Trp His Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 195
<211> 13

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 195
Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 196
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 196
Gly Ile Ala Val Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 197
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 197
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
1 5 10

<210> 198
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 198
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Asn
1 5 10

<210> 199
<211> 7
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199
Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser
 1   5

<210> 200
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 200
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Leu
 1   5

<210> 201
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 201
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Trp Val
 1   5   10

<210> 202
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 202
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser
 1   5   10

<210> 203
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 203
Gly Leu Thr Phe Ser Asn Phe Trp Met Ser
1 5 10

<210> 204
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 204
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 205
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 205
Asn Ile Lys His Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 206
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 206
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 207

<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 207
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Val
 1   5   10

<210> 208
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 208
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile
 1   5   10

<210> 209
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 209
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
 1   5   10

<210> 210
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 210
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr Leu Asn
 1   5   10

<210> 211
<211> 7

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 211
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1   5

<210> 212
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 212
Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser
 1   5

<210> 213
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 213
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ile Thr
 1   5

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 214
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Ile Thr
 1   5

<210> 215
<211> 10
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Asn
 1   5   10

<210> 216
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 216
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 217
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 217
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 218
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 218
Lys Phe Val Leu Met Val Tyr Ala Met Leu Asp Tyr
 1   5   10

<210> 219
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 219
Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 220
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 220
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asn
1 5 10 15

<210> 221
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 221
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asn Tyr Asn Leu Val Ser
1 5 10

<210> 222
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 222
Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 223

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

<400> 223
Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala His Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 224
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 224
Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 225
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 225
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys
1 5 10

<210> 226
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 226
Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Ser Tyr Glu Val Asp
1 5 10

<210> 227
<211> 7

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 227
Leu Gly Ser His Arg Ala Ser
 1   5

<210> 228
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 228
Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser
 1   5

<210> 229
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 229
Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
 1   5

<210> 230
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 230
Gly Asn Thr Tyr Arg Pro Ser
 1   5

<210> 231
<211> 7
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
 1   5

<210> 232
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 232
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 1   5

<210> 233
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 233
Gln Asn Thr Lys Trp Pro Leu
 1   5

<210> 234
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 234
Val Asp Thr Gly Gly Ile Val
 1   5

<210> 235
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 235
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Ile
1 5

<210> 236
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 236
Met Gln Val Leu Gln Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 237
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 237
Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr Leu Val
1 5 10

<210> 238
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 238
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
1 5 10

<210> 239
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 239
Gln Ser Tyr Asp Asn Ser Leu Ser Gly Val Val
1 5 10

<210> 240
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 240
Ala Val Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Trp Val
1 5 10

<210> 241
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 241
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Val Val
1 5 10

<210> 242
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 242
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
1 5

<210> 243
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 243

Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Thr Asn Phe Val
1 5 10 15
Val Val

<210> 244
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 244
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 245
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 245
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

<210> 246
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 246
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 247
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 247
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
1 5 10

<210> 248
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 248
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 249
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 249
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Asp Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 250
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 250
Gly Gly Ser Phe Ser Ala Tyr Tyr Trp Asn
1 5 10

<210> 251
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 251

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn
1 5 10

<210> 252
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 252
Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 253
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 253
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 254
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 254
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 255

<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 255
Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 256
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 256
Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 257
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 257
Tyr Ile Tyr Asn Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 258
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 258
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 259
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 259
Glu Ile Asn His Ser Gly Arg Thr Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 260
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 260
Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Lys Asn Tyr Ser Val Ser Val
1 5 10 15
Lys Ser

<210> 261
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 261
Gly Tyr Thr Arg Asp Tyr
1 5

<210> 262
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 262
Glu Val Gly Ser Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 263
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 263
Glu Thr Gly Pro Leu Lys Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 264
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 264
Arg Gly Gly Leu Ala Ala Arg Pro Gly Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 265
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 265
Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 266
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 266
Glu Asp Thr Ala Met Val Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 267
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 267
Gly Gly Val Thr Thr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10

<210> 268
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 268
Gly Gln Leu Val Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 269
Gly Gly Pro Thr Ala Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 270
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 270
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

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

<210> 271
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 271

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

<210> 272
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 272

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

<210> 273
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 273

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

<210> 274
<211> 106
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 274

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

<210> 275
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 275

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

<210> 276
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 276
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
            20   25   30
Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
        35   40   45
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50   55   60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65   70   75   80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
                85   90   95
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 277
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 277
Ser Tyr Glu Leu Ile Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
            20   25   30
Cys Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Gln Ser Pro Ile Leu Val Ile Tyr
        35   40   45
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50   55   60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65   70   75   80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
                85   90   95
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 278
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 278
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Ser Tyr Ser Ser Gly Trp Phe Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 279
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 279
Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Ser Tyr Glu Val Asp
1 5 10

<210> 280
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 280
Val Asp Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Glu
1 5 10

<210> 281
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 281
Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Thr Asn Phe Val Val Val
1 5 10

<210> 282
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 282
Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Leu Phe Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Leu Thr Cys
20

<210> 283
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 283
Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met Arg
1 5 10 15

<210> 284
<211> 32
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

```
Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Val Leu Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr
 1               5                  10                  15
Leu Thr Ile Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys
            20                  25                  30
```

<210> 285
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 285

```
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 1               5                  10
```

<210> 286
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 286

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

<210> 287
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 287
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Ile Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
100 105

<210> 288
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 288
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Asn Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val

100 105

<210> 289
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 289
Gln Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 290
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 290
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Cys Val
35 40 45
Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Gly Gly Leu Ala Ala Arg Pro Gly Gly Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 291
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 291

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

<210> 292
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 292

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

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

<210> 293
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 293
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc aactcatata caagcaccag catggtattc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 294
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 294
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300

ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 295
<211> 318
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 295
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagaatc 60
acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtcccctg tgctggtcat ctatcaaaat accaagtggc ccttagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaagtctgg gaacacagtc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt cggcggaggg 300
accaagctga ccgtccta 318

<210> 296
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 296
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc aattcatata caagcaccag catggtattc 300
ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 297
<211> 215
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 297
Glu Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

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

<210> 298
<211> 230
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 298

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

```
Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
        115                 120                 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
            180                 185                 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
        195                 200                 205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Asp Glu Val Asp
    210                 215                 220
His His His His His His
225                 230
```

<210> 299
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 299

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

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

<210> 300
<211> 238
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 300

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

```
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220
Ser Cys Ala Ala Asp Glu Val Asp His His His His His His
225                 230                 235
```

<210> 301
<211> 218
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 301

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

```
            180                 185                 190
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
        195                 200                 205
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
    210                 215
```

<210> 302
<211> 231
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 302

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

Asp His His His His His His
225 230

<210> 303
<211> 680
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 303
Gln Glu Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg
1 5 10 15
Ser Glu Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala
20 25 30
Thr Phe His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr
35 40 45
Val Val Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr
50 55 60
Ala Arg Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys
65 70 75 80
Ile Leu His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met
85 90 95
Ser Gly Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr
100 105 110
Ile Glu Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu
115 120 125
Glu Arg Ile Thr Pro Pro Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro
130 135 140
Asp Gly Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln
145 150 155 160
Ser Asp His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu
165 170 175
Asn Val Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys
180 185 190
Cys Asp Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp
195 200 205
Ala Gly Val Ala Lys Gly Ala Ser Met Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn
210 215 220
Cys Gln Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe
225 230 235 240
Ile Arg Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu

```
                245                 250                 255
Leu Pro Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln
            260                 265                 270
Arg Leu Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Asp Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile
    290                 295                 300
Thr Val Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr
305                 310                 315                 320
Leu Gly Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu
                325                 330                 335
Asp Ile Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln
            340                 345                 350
Ser Gly Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met
        355                 360                 365
Met Leu Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg
    370                 375                 380
Leu Ile His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Asp Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro
                405                 410                 415
Ser Thr His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser
            420                 425                 430
Ala His Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Ile Ala Arg Cys Ala
        435                 440                 445
Pro Asp Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys
    450                 455                 460
Arg Arg Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg
465                 470                 475                 480
Ala His Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys
                485                 490                 495
Cys Leu Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala
            500                 505                 510
Glu Ala Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val
        515                 520                 525
Leu Thr Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His
    530                 535                 540
Lys Pro Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly
545                 550                 555                 560
His Arg Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu
                565                 570                 575
```

```
Glu Cys Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val
            580                 585                 590
Thr Val Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu
        595                 600                 605
Pro Gly Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys
    610                 615                 620
Val Val Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Glu
625                 630                 635                 640
Ala Val Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln
                645                 650                 655
Ala Ser Gln Glu Leu Gln Gly Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
            660                 665                 670
His His His His His His His His
        675                 680
```

<210> 304
<211> 680
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 304

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

145 150 155 160
Arg Arg His Glu Glu Ile Arg Gly Arg Val Arg Arg Arg Arg Phe Arg
165 170 175
Arg Arg Pro Arg Arg Arg Arg Arg Glu Arg Glu Glu Arg Arg Arg Arg
180 185 190
Cys Asp Arg Arg Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Glu Arg
195 200 205
Ala Gly Val Ala Arg Arg Ala Arg Met Arg Ser Leu Glu Val Leu Asn
210 215 220
Cys Arg Gly Arg Gly Arg Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Arg
225 230 235 240
Ile Glu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Pro Arg Arg Pro Leu Val Val Leu
245 250 255
Leu Pro Leu Ala Gly Arg Tyr Ser Glu Val Leu Asn Arg Ala Cys Arg
260 265 270
Arg Leu Ala Glu Arg Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe
275 280 285
Glu Asp Asp Ala Cys Arg Tyr Ser Pro Ala Arg Ala Pro Glu Val Ile
290 295 300
Thr Val Gly Ala Thr Asn Arg Arg Arg Arg Pro Val Arg Arg Gly Arg
305 310 315 320
Arg Gly Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Arg
325 330 335
Arg Ile Ile Gly Ala Ser Ser Arg Cys Ser Arg Cys Arg Arg Arg Arg
340 345 350
Ser Gly Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Arg
355 360 365
Met Leu Arg Arg Arg Pro Arg Leu Arg Arg Ala Arg Leu Arg Gln Glu
370 375 380
Leu Arg Arg Arg Ser Arg Arg Arg Arg Ile Arg Arg Arg Arg Phe Pro
385 390 395 400
Arg Arg Arg Glu Arg Leu Thr Pro Arg Leu Val Ala Arg Leu Pro Pro
405 410 415
Arg Arg Arg Arg Arg Gly Arg Arg Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser
420 425 430
Arg Arg Ser Gly Pro Arg Glu Arg Ala Arg Ala Ile Ala Glu Cys Ala
435 440 445
Pro Arg Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys
450 455 460
Arg Arg Gly Glu Arg Met Glu Arg Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg
465 470 475 480

```
Ala His Asn Ala Arg Arg Gly Arg Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys
                485                 490                 495
Cys Leu Leu Pro Gln Ala Arg Cys Ser Val His Arg Ala Pro Pro Ala
            500                 505                 510
Arg Arg Arg Arg Gly Thr Glu Val Arg Cys Arg Arg Arg Gly His Val
        515                 520                 525
Leu Thr Gly Cys Ser Ser His Trp Arg Arg Arg Asp Arg Gly Thr Arg
    530                 535                 540
Lys Pro Pro Arg Leu Arg Pro Glu Gly Arg Pro Arg Gln Cys Val Gly
545                 550                 555                 560
His Arg Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu
                565                 570                 575
Glu Cys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Ile Pro Ala Pro Arg Glu Arg Val
            580                 585                 590
Thr Val Arg Cys Arg Arg Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu
        595                 600                 605
Pro Gly Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Arg Asp Asn Thr Cys
    610                 615                 620
Val Val Arg Ser Glu Asp Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu
625                 630                 635                 640
Arg Val Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Glu Ser Glu His Leu Ala Gln
                645                 650                 655
Ala Ser Gln Glu Leu Gln Gly Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
            660                 665                 670
His His His His His His His His
        675                 680
```

<210> 305
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 305
```
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
 1               5                  10
```

<210> 306
<211> 7
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 306
Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 307
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 307
Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 308
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 308
Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 309
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 309
Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 310
<211> 6

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 310
Gly Tyr Gly Met Asp Val
1 5

<210> 311
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 311
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 312
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 312
Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 313
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 313
Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Val Val
1 5

<210> 314
<211> 17
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 314
Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Leu Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 315
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 315
Gly Tyr Val Met Asp Val
1 5

<210> 316
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 316
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 317
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 317
Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Asn Met Val
1 5

<210> 318
<211> 17

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 318
Trp Val Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 319
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 319
Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 320
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 320
Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 321
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 321
Glu Val Thr Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 322
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 322
Thr Gly Thr Asn Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
 1   5   10

<210> 323
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 323
Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
 1   5   10   15
Gly

<210> 324
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 324
Trp Ile Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Val Gln
 1   5   10   15
Gly

<210> 325
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 325

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Phe Val Ser
1 5 10

<210> 326
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 326
Asp Tyr Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 327
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 327
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Gly Tyr Val
1 5 10

<210> 328
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 328
Ser Phe Gly Met His
1 5

<210> 329
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 329
Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 330
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 330
Ala Ile Ala Ala Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 331
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 331
Asp Ser Asn Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 332
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 332
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val
1 5 10

<210> 333
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 333

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 334
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 334
Leu Ile Trp His Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 335
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 335
Gly Ile Ala Val Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 336
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 336
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 337
<211> 11
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 337
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ser Tyr Val
1 5 10

<210> 338
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 338
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 339
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 339
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Asn
1 5 10

<210> 340
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 340
Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 341
<211> 10

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 341
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Trp Val
 1   5   10

<210> 342
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 342
Tyr Trp Met Ser
 1

<210> 343
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 343
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 344
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 344
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile
 1   5   10

<210> 345

<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 345
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
 1   5   10

<210> 346
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 346
Arg Tyr Trp Met Ser
 1   5

<210> 347
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 347
Asn Ile Lys His Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 348
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 348
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Val
 1   5   10

<210> 349
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 349
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Leu
1 5

<210> 350
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 350
Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 351
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 351
Asn Phe Trp Met Ser
1 5

<210> 352
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 352
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 353

<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 353
Ala Ala Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 354
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 354
Gln Gln Ser Tyr Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 355
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 355
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 356
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 356
Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 357
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 357
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 358
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 358
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 359
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 359
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 360
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 360
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 361
<211> 5
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 361
Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 362
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 362
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 363
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 363
Lys Phe Val Leu Met Val Tyr Ala Met Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 364
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 364
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 365
<211> 17

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 365
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 366
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 366
Gly Tyr Ser Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
 1   5   10

<210> 367
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 367
Gly Tyr Ala Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
 1   5   10

<210> 368
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 368
Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
 1   5   10

<210> 369

<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 369
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 370
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 370
Gly Tyr Thr Phe Pro Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 371
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 371
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 372
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 372
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 373
<211> 10

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 373
Gly Leu Thr Phe Ser Asn Phe Trp Met Ser
 1   5   10

<210> 374
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 374
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Asn
 1   5   10

<210> 375
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 375
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Gly Met His
 1   5   10

<210> 376
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 376
Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met His
 1   5   10

<210> 377
<211> 16
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 377
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 378
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 378
Asn Ile Lys His Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 379
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 379
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 380
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 380
Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 381
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 381
Leu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 382
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 382
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Glu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 383
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 383
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 384
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 384
Leu Ile Trp His Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 385
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 385
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 386
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 386
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 387
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 387
Gly Tyr Val Met Asp Val
1 5

<210> 388
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 388
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 389
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 389

Thr Gly Thr Asn Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 390
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 390
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 391
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 391
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 392
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 392
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Leu
1 5

<210> 393
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 393
Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 394
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 394
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 395
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 395
Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 396
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 396
Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Val Val
1 5

<210> 397
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 397
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Trp Val
1 5 10

<210> 398
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 398
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ser Tyr Val
1 5 10

<210> 399
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 399
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val
1 5 10

<210> 400
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 400
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Tyr Ser Ser Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

```
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 401
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 401

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

<210> 402
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 402

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Trp Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110
Thr Val Ser
115

<210> 403
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 403
Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
1 5

<210> 404
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa= D, A, R hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=Y, I, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=D, A, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=F, A, L hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=W, L, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S, Y, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=A, Y, R hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=Y, P hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=Y, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=D, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=A, M hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=F,D hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=D, V hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (14)...(14)
<223> Xaa=V hoặc không axit amin

<400> 404
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 405
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=Q hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 2
<223> Xaa=S, T, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=Y, W hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=D hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=S hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=L, T hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=A, S hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=G, A, V hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=S, Y, V hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=V hoặc không axit amin

<400> 405
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 406
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=Y, F hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4

<223> Xaa=L hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=T, S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=Y hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=G, S hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=I, M hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=S, N hoặc H

<400> 406
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 407
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=T hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=G hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=S, T hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=N, D hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)

<223> Xaa=I, V hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=G hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=A hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=G, Y, S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=Y hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=D, S, T hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=V

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> (14)...(14)
<223> Xaa=S, N hoặc H

<400> 407
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 408
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=W, S, L hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=V, I hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=S, W hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=F, S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=Y, S, D hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 6
<223> Xaa=N, S hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=S hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=N, Y, D hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=T, I hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=N, S, Y hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=A và N

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=Q, D hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (14)...(14)
<223> Xaa=K hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (15)...(15)
<223> Xaa=L hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (16)...(16)
<223> Xaa=Q hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (17)...(17)
<223> Xaa=G hoặc S

<400> 408
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10   15
Xaa

<210> 409
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=G, E, S hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=N, V hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=N, Q hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=S

<400> 409
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 410
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=D hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=Y, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=D, I hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=F, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=W, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S, L hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=A, Y, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=Y, Q hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=G, Y hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=Y, D hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=G, A hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=M hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (14)...(14)

<223> Xaa=V hoặc Y

<400> 410
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 411
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=Q, A, G hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=S, V, T hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=Y, N hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=S hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=S, Y hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6

<223> Xaa=S hoặc T

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=L hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=S, T hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=G, S hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=S, M, W hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=V

<400> 411
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 412
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=G, P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=T, P, S, A, C, V, L hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=L, F, I, V, M, A hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=T, P, S hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> (8)...(8)
<223> Xaa=G, P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=I, L, V, M, A hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<400> 412
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 413
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=G, P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=T hoặc S

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=S, N, T, A, C hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=D hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=V, I, M, L, F hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=G, P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=G, A, R, P, V, L, I, K, Q hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=N hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=Y, S, W, F, T, S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=V, I, M, L, F, hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (14)...(14)
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<400> 413
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 414
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=W, Y hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=V, I, M, L, F hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=A, F, V, L, I, Y hoặc M

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=N hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=G, P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=N hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (10)...(10)
<223> Xaa=N hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (11)...(11)
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)...(12)
<223> Xaa=A, V, L hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (13)...(13)
<223> Xaa=Q, E, N hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (14)...(14)
<223> Xaa=K, R, Q hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (15)...(15)
<223> Xaa=L, F, V, I, M, A hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (16)...(16)
<223> Xaa=Q hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (17)...(17)
<223> Xaa=G, P hoặc A

<400> 414
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10   15
Xaa

<210> 415
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=E hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=V, I, M, L, F hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa=N hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5

<223> Xaa=R, K, Q hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=P hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<400> 415
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 416
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=G, P, A hoặc không axit amin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=G, V, P, A, I, M, L hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 4
<223> Xaa=M, L, F hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=D hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=V, I, M, L, F hoặc A

<400> 416
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 417
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa=S, N, T, A, C hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa=Y, W, F, T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 4
<223> Xaa=T hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa=S, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (7)...(7)
<223> Xaa=N, S, Q, T, A hoặc C

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (8)...(8)
<223> Xaa=M, V, L, F, I hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (9)...(9)
<223> Xaa=V, I, M, L, F hoặc A

<400> 417
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 418
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 418
caggtgcagg tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaccctc acagtggtgg cgcaaactat 180
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggcaac 300
tggaactacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 419
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 419
Gln Val Gln Val 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 Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro His Ser Gly Gly Ala Asn 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 Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 420
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 420
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctacagcct 240
gaagatgttg caacttattt ctgtcaaagg tatcagattg ccccattcac tttcggccct 300
gggaccaagg tggatatcaa a 321

<210> 421
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 421
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Arg Tyr Gln Ile Ala Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 422
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 422
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atctggtatg atggaagtac taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 423
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 423

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

<210> 424
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 424

```
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaggctat tatgcaacct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aactaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taactcccgg gacagcattg gtaaccatct ggtgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta                                        324
```

<210> 425
<211> 108
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 425

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

<210> 426
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 426

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggct tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggttag atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 427
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 427

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

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

<210> 428
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 428
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaagttat tatggaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctttggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taactcacgg gacatcattg gtgaccatct gctgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 429
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 429
```
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1               5                  10                  15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Gly
            20                  25                  30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Phe
        35                  40                  45
```

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Thr Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ile Ile Gly Asp His
85 90 95
Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 430
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 430
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagt ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagg aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtttg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgctaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 431
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 431
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Leu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

```
                85                  90                  95
Ala Arg Ser Val Ala Gly Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 432
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 432
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccagg gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
atctctggct ccacctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taaatcccgg gacatcattg gtgaccatct ggtgttcggc 300
ggagggacca aactgaccgt ccta 324

<210> 433
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 433

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

<210> 434
<211> 342
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 434
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgt gagagatcgg 300
ggactggact ggggccaggg aaccctggtc accgtctcct ca 342

<210> 435
<211> 114
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 435
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Val Arg Asp Arg Gly Leu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100   105   110
Ser Ser

<210> 436
<211> 324
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 436
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaggctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taagtcccgg gacagcagtg gtgaccatct ggtgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 437
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 437
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Thr Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Lys Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asp His
85 90 95
Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 438
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 438
caggtgcagg tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggtatg atggaagtag taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg atccaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 439
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 439
Gln Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Val Ala Gly Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 440
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 440
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaggctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taagtcccgg gacagcagtg gtgaccatct ggtgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 441
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 441

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

<210> 442
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 442
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagtctc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtta taaagactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccaccatc tccagagaca actccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attattgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 443
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 443

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

<210> 444
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 444

```
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggccccta ttcttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aatcacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taaatcccgg gacatcattg gtaaccatct gctgttcggc 300
ggagggacta agctgaccgt ccta                                        324
```

<210> 445
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 445

```
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 446
<211> 375
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 446
caggtgcagc tggtggcgtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccctcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggccagg ggctggagtg ggtggcagtc atatggtatg atggaagtaa caaatactat 180
gcagcctccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggt 300
ggttcgggga gtcatcgcta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 447
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 447
Gln Val Gln Leu Val Ala Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Ala Ser Val

```
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 448
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 448
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggccccta ttcttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacctcagg aatcacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taaatcccgg gacatcattg gtaaccatct gctgttcggc 300
ggagggacta agctgaccgt ccta 324

<210> 449
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 449
```
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1               5                  10                  15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala
            20                  25                  30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
        35                  40                  45
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60
Thr Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                  70                  75                  80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Lys Ser Arg Asp Ile Ile Gly Asn His
```

```
                85                  90                  95
Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 450
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 450
caggtgcaag tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaggtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccatcatc tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attattgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc attattacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
gcctca 366

<210> 451
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 451
```
Gln Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Ser Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Ser Val Ala Gly Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ala Ser
        115                 120
```

<210> 452
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 452
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact ctgtctcctg gtaccaacag 120
cacccaggca aacccccaa actcatgatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcagggatt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttatttctgc agctcatata caagcaccag catggtcttc 300
ggcggaggga ccaagctggc cgtccta 327

<210> 453
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 453
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
            20   25   30
Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
        35   40   45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Ser Asn Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65   70   75   80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Thr
                85   90   95
Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Ala Val Leu
            100   105

<210> 454
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 454
caggtgcaag tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaggtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg atccatcatc tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attattgtgc gaggtcagtg 300
gctggttacc attattacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
gcctca 366

<210> 455
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 455
Gln Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Ser Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Val Ala Gly Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ala Ser
115 120

<210> 456
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 456
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60

acatgccaag gagacagcct cagaggctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccaaga 120
caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
ttctctggct ccacgtcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240
gatgaggctg actattactg taactcccgg gacaacattg gtgaccatct ggtgttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 457
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 457
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Thr Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asp His
85 90 95
Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 458
<211> 381
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 458
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt caccttttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccagc ataaaacaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaggaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatctt 300
gtattaatgg tgtatgatat agactactac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 459
<211> 127
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 459

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

<210> 460
<211> 336
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 460

```
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
ctcactttcg gcggagggac caaggtagag atcaaa                          336
```

<210> 461
<211> 112
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 461

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

<210> 462
<211> 381
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 462

```
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagt aactattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccagc ataaaacaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcgccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgttt 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatctt 300
gtactaatgg tgtatgatat agactactac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a                                           381
```

<210> 463
<211> 127
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 463

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

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

<210> 464
<211> 336
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 464
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcctgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcttgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg ggtacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cacatcttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggagtt tattactgca tgcaaactct acaaactccg 300
ctcactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 465
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 465
```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45
```

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Leu Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 466
<211> 342
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 466
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggcccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatactatg atggaattaa taaacactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
ggactggact ggggccaggg aaccctggtc accgtctcct ca 342

<210> 467
<211> 114
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 467
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Ala Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Tyr Tyr Asp Gly Ile Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

<210> 468
<211> 339
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 468
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acagtaagaa ctacttagtt 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc ctctacccgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttatagtact 300
ccgtggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 469
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 469
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 470
<211> 357
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 470
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact cacctttagt aacttttgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaaatga taaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagtca 300
aactggggat ttgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 471
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 471
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Asn Phe
            20   25   30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Asn Asp Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
            100   105   110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 472
<211> 327

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 472
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaaaactg taaactggta ccagcagttc 120
ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc ggcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa ttgggtgttc 300
ggcgcaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 473
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 473
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys
            20   25   30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65   70   75   80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
                85   90   95
Asn Trp Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 474
<211> 357
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 474
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggt ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact cacctttagt aacttttgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagtca 300
aactggggat ttgcttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 475
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 475
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Asn Phe
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 476
<211> 327
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 476
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaaaactg taaactggta ccagcagttc 120
ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc ggcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca acatgggatg acagactgaa ttgggtgttc 300
ggcgcaggga ccaagctgac cgtccta 327

<210> 477
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 477
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys
            20   25   30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65   70   75   80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Arg Leu
                85   90   95
Asn Trp Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 478
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 478
caggtcacct tgaaggagtc tggtcctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60
acctgcaccg tctctgggtt ctcactcagc aatgttagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120
cagcccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatga cgaaaattcc 180
tacagaacat ctctgaagag caggctcacc atctccaagg acacctccaa aagccaggtg 240
gtccttacca tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300
gtgggagcta caacggatga tgcttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360
tcttca   366

<210> 479
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 479

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

<210> 480
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 480

tcctatgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggcccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg acttttactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgatcctgt ggtattcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 481
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 481

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

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

<210> 482
<211> 381
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 482
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aactattgga tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccagc ataaagcaag atggaagtga gagatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tcccgagaca ccgccaagaa ctctctgtat 240
ctccaaatga acagcctgcg agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacctctt 300
gtactaatgg tgtatgctct acactactac tactacggta tggacgtctg gggccacggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 483
<211> 127
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 483
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ser Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Arg Tyr Tyr Val Asp Ser Val

```
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Pro Leu Val Leu Met Val Tyr Ala Leu His Tyr Tyr Tyr Tyr
            100                 105                 110
Gly Met Asp Val Trp Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 484
<211> 336
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 484

```
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300
ctcactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa                          336
```

<210> 485
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 485

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

```
                85                  90                  95
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 486
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 486

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

<210> 487
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 487

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

<210> 488
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 488
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

<210> 489
<211> 93
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 489
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

```
        35                  40                  45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
                85                  90
```

<210> 490
<211> 94
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 490

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

<210> 491
<211> 89
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 491

```
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1               5                  10                  15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
            20                  25                  30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
        35                  40                  45
```

```
Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65                  70                  75                  80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
                85
```

<210> 492
<211> 87
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 492

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

<210> 493
<211> 49
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 493

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

<210> 494
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 494
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

<210> 495
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 495
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

<210> 496
<211> 88
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 496
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
85

<210> 497
<211> 90
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 497
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90

<210> 498
<211> 87
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 498
Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85

<210> 499
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 499
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Asn
1 5 10

<210> 500
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 500

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 501
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 501
Ser Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 502
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 502
Asp Leu Val Leu Met Val Tyr Asp Ile Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15
Asp Val

<210> 503
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 503
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Leu Asp
1 5 10 15

<210> 504
<211> 7
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 504
Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 505
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 505
Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 506
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 506
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 507
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 507
Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly Val Ser
1 5 10

<210> 508
<211> 12

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 508
Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg Met Gly Val Ser
 1   5   10

<210> 509
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 509
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala
 1   5   10

<210> 510
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 510
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
            20   25

<210> 511
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 511
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
 1   5   10

<210> 512

<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 512
Gly Leu Thr Phe Ser Asn Phe Trp Met Ser
 1   5   10

<210> 513
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 513
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Thr
 1   5   10

<210> 514
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 514
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 1   5   10

<210> 515
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 515
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
            20   25

<210> 516
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 516
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Ala Gln Pro Gly Arg
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
            20   25

<210> 517
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 517
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1   5   10

<210> 518
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 518
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 1   5   10

<210> 519
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 519
His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Ser
 1   5   10   15

<210> 520
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 520
His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Asn Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser
 1   5   10   15

<210> 521
<211> 33
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 521
Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1   5   10   15
Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30
Ile

<210> 522
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 522
Val Gly Ala Thr Thr Asp Asp Ala Phe Asp Ile
 1   5   10

<210> 523
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 523

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 524
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 524
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 525
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 525
Trp Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 526
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 526
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 527
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 527
Asn Ile Lys Gln Asp Gly Asn Asp Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 528
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 528
Ser Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Arg Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 529
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 529
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
 1   5   10   15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 530
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 530
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
 1   5   10   15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 531
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 531
Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe Leu Gln
 1   5   10   15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 532
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 532
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
 1   5   10   15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 533
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 533
Glu Ser Asn Trp Gly Phe Ala Phe Asp Ile
 1   5   10

<210> 534
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 534
Pro Leu Val Leu Met Val Tyr Ala Leu His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1   5   10   15
Asp Val

<210> 535
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 535
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 536
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 536
Val Ile Tyr Tyr Asp Gly Ile Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 537
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 537
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1   5   10   15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 538
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 538
Asp Arg Gly Leu Asp
1 5

<210> 539
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 539
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 540
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 540
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 541
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 541
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 542
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 542
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 543
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 543
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 544
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 544
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Val

<210> 545
<211> 15

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 545
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1   5   10   15

<210> 546
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 546
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Arg Val Thr Ile Ser Cys
            20

<210> 547
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 547
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
 1   5   10

<210> 548
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 548
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Asn
 1   5   10

<210> 549

<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 549
Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1   5   10   15

<210> 550
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 550
Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1   5   10   15

<210> 551
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 551
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
 1   5   10   15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys
            20

<210> 552
<211> 22
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 552
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1   5   10   15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys
            20

<210> 553
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 553
Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 554
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 554
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 555
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 555
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
1 5 10 15

<210> 556
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 556
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 557
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 557
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Leu Thr
1 5 10 15
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 558
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 558
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 559
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 559
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 560
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 560

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 561
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 561
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 562
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 562
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 563
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 563
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 564
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 564
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 565
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 565
Ser Asn Asn Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 566
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 566
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
1 5 10 15
Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 567
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 567
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Trp Val
1 5 10

<210> 568
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 568
Ala Thr Trp Asp Asp Arg Leu Asn Trp Val
1 5 10

<210> 569
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 569
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

<210> 570
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 570
Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 571
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 571
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 572
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 572
Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 573
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 573
Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys
20 25 30

<210> 574
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 574
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Pro Val Val
1 5 10

<210> 575
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 575
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
1 5 10

<210> 576
<211> 127

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 576
Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20   25   30
Trp Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
            100   105   110
Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115   120   125

<210> 577
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 577
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20   25   30
Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35   40   45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

```
    50                  55                  60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
                85                  90                  95
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 578
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 578

```
Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp Met Lys
 1               5                  10
```

<210> 579
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 579

```
Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1               5                  10                  15
Gly
```

<210> 580
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 580

```
Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1               5                  10                  15
Asp Val
```

<210> 581
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 581
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp
 1   5   10   15

<210> 582
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 75
<223> Xaa = H hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 76
<223> Xaa = F hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 96
<223> Xaa = T hoặc A

<400> 582
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20   25   30
Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

```
        35                  40                  45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Xaa Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Xaa
                85                  90                  95
Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 583
<211> 127
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 31
<223> Xaa = S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 35
<223> Xaa = S hoặc T

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 58
<223> Xaa = K hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 69
<223> Xaa = A hoặc T

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 74
<223> Xaa = N hoặc T

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (76)...(76)
<223> Xaa = K hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (80)...(80)
<223> Xaa = Y hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (99)...(99)
<223> Xaa = D hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (106)...(106)
<223> Xaa = D hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (107)...(107)
<223> Xaa = I hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (108)...(108)
<223> Xaa = D hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (119)...(119)
<223> Xaa = Q hoặc H

<400> 583
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr
            20   25   30
Trp Met Xaa Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Ser Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Xaa Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Xaa Ile Ser Arg Asp Xaa Ala Xaa Asn Ser Leu Xaa
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Xaa Leu Val Leu Met Val Tyr Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Tyr
            100   105   110
Gly Met Asp Val Trp Gly Xaa Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115   120   125

<210> 584
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = T hoặc A

<400> 584
Met Gln Xaa Leu Gln Thr Pro Leu Thr
 1   5

<210> 585
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10
<223> Xaa = S hoặc T

<400> 585
Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Trp Met Xaa
1 5 10

<210> 586
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = K hoặc R

<400> 586
Ser Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Xaa Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 587
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = D hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = D hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = I hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10
<223> Xaa = D hoặc H

<400> 587
Xaa Leu Val Leu Met Val Tyr Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1   5   10   15
Asp Val

<210> 588
<211> 113
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 588
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg
            20   25   30
Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35   40   45
Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50   55   60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65   70   75   80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
                85   90   95
Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100   105   110
Lys

<210> 589
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 589
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
            20   25   30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
        35   40   45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
    50   55   60

```
Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
            100                 105                 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```