



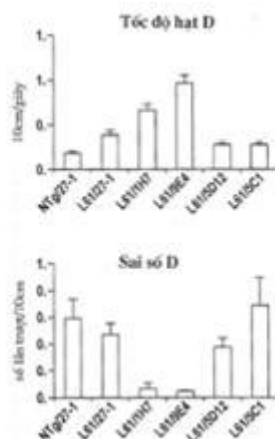
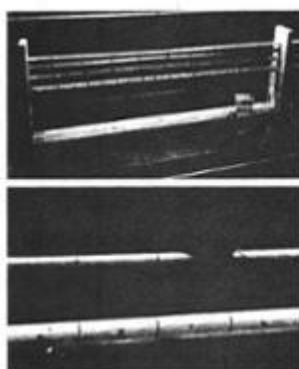
(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07K 16/00; C12P 21/08; A61K 39/395 (13) B



(21) 1-2014-02855 (22) 25/01/2013
(86) PCT/US2013/023307 25/01/2013 (87) WO2013/112945 01/08/2013
(30) 61/591,835 27/01/2012 US; 61/711,207 08/10/2012 US
(45) 25/05/2020 386 (43) 25/03/2015 324A
(73) PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED (IE)
25-28 North Wall Quay, Dublin 1, Ireland
(72) SALDANHA, Jose (GB); NIJJAR, Tarlochan S. (US)
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) KHÁNG THỂ GẮN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI ALPHA-SYNUCLEIN CỦA NGƯỜI, DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33 hoặc SEQ ID NO.37, trong đó kháng thể này gắn kết đặc hiệu với alpha-synuclein của người; dược phẩm chứa kháng thể này; và phương pháp sản xuất kháng thể này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33 hoặc SEQ ID NO.37, trong đó kháng thể này gắn kết đặc hiệu với alpha-synuclein của người; dược phẩm chứa kháng thể này; và phương pháp sản xuất kháng thể này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các bệnh do lắng đọng bất thường synuclein, bao gồm các bệnh do thể Lewy (Lewy body disease - LBD), được đặc trưng bởi quá trình thoái hóa hệ tiết dopamin, làm biến đổi chức năng vận động, suy giảm nhận thức, và tạo ra các thể Lewy (LB) và/hoặc sợi trục Lewy. (McKeith et al., Neurology (1996) 47:1113-24). Các bệnh do lắng đọng bất thường synuclein bao gồm bệnh Parkinson (bao gồm bệnh Parkinson tự phát), bệnh do thể Lewy lan tỏa (Diffuse Lewy Body Disease - DLBD) còn được gọi là bệnh sa sút trí tuệ kèm theo thể Lewy (DLB), các dạng biến đổi của thể Lewy của bệnh Alzheimer (Lewy body variant of Alzheimer's disease - LBV), bệnh Alzheimer và Parkinson kết hợp, rối loạn thần kinh tự động đơn thuần và bệnh teo đa hệ thống (MSA; ví dụ, teo trám cầu tiểu não, thoái hóa thể vân chất đen và hội chứng Shy-Drager). Một vài dấu hiệu và triệu chứng không vận động được cho là dấu hiệu sớm của bệnh do lắng đọng bất thường synuclein ở pha báo trước của các bệnh này (tức là giai đoạn tiền triệu chứng, cận lâm sàng, tiền lâm sàng, hoặc tiền vận động). Các dấu hiệu sớm này bao gồm, ví dụ, rối loạn hành vi giấc ngủ REM (REM sleep behavior disorder - RBD), mất khả năng khúu giác và chứng táo bón (Mahowald et al., Neurology (2010) 75:488-489). Bệnh do thể Lewy còn là nguyên nhân phổ biến của các rối loạn vận động và giảm nhận thức ở người cao tuổi (Galasko et al., Arch. Neurol. (1994) 51:888-95).

Alpha-synuclein là một phần của họ protein lớn cùng với beta-synuclein và gamma-synuclein và beta-synoretin và gama-synoretin. Alpha-synuclein được biểu hiện ở trạng

thái bình thường liên quan tới các synap và đóng vai trò đảm bảo tính linh hoạt thần kinh, khả năng học hỏi và trí nhớ. Một vài nghiên cứu gợi ý rằng alpha-synuclein có vai trò chủ yếu trong quá trình sinh bệnh PD. Protein này có thể kết tụ để tạo ra các sợi không tan trong điều kiện bệnh lý. Ví dụ, synuclein tích tụ trong các LB (Spillantini et al., *Nature* (1997) 388:839-40; Takeda et al., *J. Pathol.* (1998) 152:367-72; Wakabayashi et al., *Neurosci. Lett.* (1997) 239:45-8). Các đột biến ở gen alpha-synuclein gây đồng phân ly các dạng bệnh Parkinson gia đình hiếm gặp (Kruger et al., *Nature Gen.* (1998) 18:106-8; Polymeropoulos, et al., *Science* (1997) 276:2045-7). Sự biểu hiện quá mức alpha synuclein ở chuột nhắt chuyển gen (Masliah et al., *Science* (2000) 287:1265-9) và ruồi giấm *Drosophila* (Feany et al., *Nature* (2000) 404:394-8) mô phỏng một vài dạng của bệnh do thể Lewy. Ngoài ra, nhận thấy rằng các oligome tan của synuclein có thể là chất gây độc thần kinh (Conway KA, et al., *Proc Natl Acad Sci USA* (2000) 97:571-576; Volles et al., *J. Biochemistry* (2003) 42:7871-7878). Sự tích tụ alpha-synuclein với các biến đổi hình thái và hệ thần kinh tương tự ở các loài và các mô hình động vật khác nhau như người, chuột nhắt, và ruồi đã đưa ra gợi ý rằng phân tử này là nguyên nhân gây ra sự phát triển của bệnh do thể Lewy.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33 hoặc SEQ ID NO.37. Trong một số kháng thể theo sáng chế, hằng số K_D đối với alpha-synuclein của kháng thể theo sáng chế bằng khoảng từ 0,5 đến 2 K_D đối với alpha-synuclein của kháng thể 1H7 của chuột hoặc kháng thể 1H7 thể khảm. Trong một số kháng thể theo sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37.

Trong một số kháng thể theo sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33.

Trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên, vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có thể được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ hoàn chỉnh được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ.

Trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên, vùng hằng định chuỗi nặng có thể là dạng đột biến của vùng hằng định tự nhiên của người có ái lực gắn kết với thụ thể Fcγ thấp hơn vùng hằng định tự nhiên của người.

Trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên, vùng hằng định chuỗi nặng có thể là vùng hằng định chuỗi nặng của isotyp IgG1 của người. Trong một số kháng thể theo sáng chế, allotyp này là G1m3. Trong một số kháng thể theo sáng chế, allotyp này là G1m1.

Trong một số kháng thể theo sáng chế, vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.52 với điều kiện là gốc lysin ở đầu tận cùng C có thể được loại bỏ. Trong một số kháng thể theo sáng chế, vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.49. Trong một số kháng thể theo sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.52 với điều kiện là gốc lysin ở đầu tận cùng C có thể được loại bỏ và vùng hằng định chuỗi nhẹ hoàn chỉnh được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.49. Trong một số kháng thể theo sáng chế, chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.53 và chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.56.

Sáng chế cũng đề cập đến axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh và vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh bất kỳ nêu trên, ví dụ axit nucleic có trình tự bất kỳ như nêu trong các trình tự SEQ ID NO.22, SEQ ID NO.32 hoặc SEQ ID NO.36.

Sáng chế cũng đề cập đến tế bào vật chủ chứa vector chứa axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa kháng thể theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể, bao gồm bước nuôi cấy tế bào được biến nạp với axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể,

sao cho tế bào này bài tiết kháng thể; và tinh chế kháng thể từ môi trường nuôi cấy tế bào; trong đó kháng thể này là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất dòng tế bào sản sinh kháng thể, bao gồm bước chuyển vector mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể và chất đánh dấu chọn lọc vào tế bào; nuôi cấy tăng sinh tế bào thu được trong các điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao của vector này được gia tăng; phân lập tế bào đơn lẻ ra khỏi tế bào đã được chọn lọc; và lập ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ đã được chọn lọc trên cơ sở hiệu suất của kháng thể; trong đó kháng thể này là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên. Theo một số phương án, phương pháp này còn bước nuôi cấy tăng sinh tế bào thu được trong các điều kiện chọn lọc và sàng lọc dòng tế bào biểu hiện tự nhiên và bài tiết kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên ít nhất ở hàm lượng bằng 100mg/L/10⁶ tế bào/24 giờ.

Mô tả chi tiết các hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ thể hiện sự sắp hàng của các trình tự axit amin của m1H7 với bốn phiên bản vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh 1H7 được làm giống như của người. BAC02037 (SEQ ID NO.42) là trình tự V_H thể nhận của người. Các vùng CDR được đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat được gạch chân và in đậm.

Fig.2 là hình vẽ thể hiện sự sắp hàng của các trình tự axit amin của m1H7 với bốn phiên bản vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh 1H7 được làm giống như của người. AAY33358 (SEQ ID NO.43) là trình tự V_L thể nhận của người. Các vùng CDR được đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat được gạch chân và in đậm.

Fig.3A-Fig.3C là đồ thị tương ứng thể hiện kết quả phân tích động học gắn kết Biacore của kháng thể 1H7 của chuột (A), kháng thể 1H7 thể khảm (B) và kháng thể 1H7 Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3 được làm giống như của người.

Fig.4A-Fig.4C là biểu đồ thể hiện các thông số động học (ForteBio) của kháng thể 1H7 được làm giống như của người (Hu1H7VHv2-Hu1H7VLv4, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv1, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv2, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv4, và Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv1) và kháng thể 1H7 thể khảm.

Fig.5 là biểu đồ thể hiện kết quả của phương pháp điều trị miễn dịch thụ động bằng 1H7 về khả năng ghi nhớ trong thử nghiệm mê cung nước Morris.

Fig.6 là biểu đồ thể hiện kết quả của phương pháp điều trị miễn dịch thụ động bằng 1H7 về tốc độ và sai số trong thử nghiệm chòm D xoay tròn.

Mô tả chi tiết sáng chế

SEQ ID NO.1 là trình tự axit amin của alpha-synuclein thể đại của người.

SEQ ID NO.2 là vùng thành phần không amyloid của alpha-synuclein như được báo cáo bởi Jensen et al. (Biochem. J. 310 (Pt 1): 91-94, 1995; Số truy nhập Ngân hàng gen S56746).

SEQ ID NO.3 là vùng thành phần không amyloid của alpha-synuclein như được báo cáo bởi Ueda et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:11282-6, 1993).

SEQ ID NO.4 là trình tự nucleotit chuỗi nặng biến đổi của kháng thể (m1H7) 1H7 của chuột.

SEQ ID NO.5 là trình tự axit amin chuỗi nặng biến đổi của m1H7.

SEQ ID NO.6 là trình tự nucleotit chuỗi nhẹ biến đổi của m1H7.

SEQ ID NO.7 là trình tự axit amin chuỗi nhẹ biến đổi của m1H7.

SEQ ID NO.8 là trình tự nucleotit chuỗi nặng biến đổi của m1H7 hoàn chỉnh.

SEQ ID NO.9 là trình tự axit amin chuỗi nặng biến đổi của m1H7 hoàn chỉnh.

SEQ ID NO.10 là trình tự nucleotit chuỗi nhẹ biến đổi của m1H7 hoàn chỉnh.

SEQ ID NO.11 là trình tự axit amin chuỗi nhẹ biến đổi của m1H7 hoàn chỉnh.

SEQ ID NO.12 là CDR1 chuỗi nặng của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.13 là CDR2 chuỗi nặng của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.14 là CDR3 chuỗi nặng của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.15 là CDR1 chuỗi nhẹ của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.16 là CDR2 chuỗi nhẹ của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.17 là CDR3 chuỗi nhẹ của m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat).

SEQ ID NO.18 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VHv1.

SEQ ID NO.19 là trình tự axit amin của Hu1H7VHv1.

SEQ ID NO.20 là trình tự axit nucleic Hu1H7VHv2.

SEQ ID NO.21 là trình tự axit amin của Hu1H7VHv2.

SEQ ID NO.22 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VHv3.

SEQ ID NO.23 là trình tự axit amin của Hu1H7VHv3.

SEQ ID NO.24 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VHv4.

SEQ ID NO.25 là trình tự axit amin của Hu1H7VHv4.

SEQ ID NO.26 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VHv5.

SEQ ID NO.27 là trình tự axit amin của Hu1H7VHv5.

SEQ ID NO.28 là trình tự axit nucleic của peptit tín hiệu của Hu1H7VH.

SEQ ID NO.29 là trình tự axit amin của peptit tín hiệu của Hu1H7VH.

SEQ ID NO.30 là trình tự axit nucleic của peptit tín hiệu của Hu1H7VH.

SEQ ID NO.31 là trình tự axit amin của peptit tín hiệu của Hu1H7VH.

SEQ ID NO.32 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VLv1.

SEQ ID NO.33 là trình tự axit amin của Hu1H7VLv1.

SEQ ID NO.34 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VLv2.

SEQ ID NO.35 là trình tự axit amin của Hu1H7VLv2.

SEQ ID NO.36 là trình tự axit nucleic của Hu1H7VLv3.

SEQ ID NO.37 là trình tự axit amin của Hu1H7VLv3.

SEQ ID NO.39 là trình tự axit amin của Hu1H7VLv4.

SEQ ID NO.40 là trình tự axit nucleic của peptit tín hiệu của Hu1H7VL.

SEQ ID NO.41 là trình tự axit amin của peptit tín hiệu của Hu1H7VL.

SEQ ID NO.42 là thể nhận BAC02037 (GI-21670055) của người được sử dụng đối với trình tự axit amin khung của chuỗi nặng.

SEQ ID NO.43 là thể nhận AAY33358 (GI-63102905) của người được sử dụng đối với trình tự axit amin khung của chuỗi nhẹ.

SEQ ID NO.44 là Hu1H7VH không chứa đột biến ngược hoặc đột biến CDR.

SEQ ID NO.45 là Hu1H7VL không chứa đột biến ngược hoặc đột biến CDR.

SEQ ID NO.46 là trình tự đối với các dạng biến đổi Hu1H7VH.

SEQ ID NO.47 là trình tự đối với các dạng biến đổi Hu1H7VL.

SEQ ID NO.48 là trình tự đối với các dạng biến đổi Hu1H7VH CDR3.

SEQ ID NO.49 là vùng hằng định chuỗi nhẹ của Hu1H7 (chứa arginin) (thông thường đối với v1-v4).

SEQ ID NO.50 là vùng hằng định chuỗi nặng của Hu1H7 (IgG1; thông thường đối với v1-v5).

SEQ ID NO.51 là vùng hằng định chuỗi nhẹ của Hu1H7 (không chứa arginin) (thông thường đối với v1-v4).

SEQ ID NO.52 là vùng hằng định chuỗi nặng của Hu1H7 (alotyp G1m3).

SEQ ID NO.53 là trình tự phiên bản 3 của chuỗi nhẹ của Hu1H7 (vùng biến đổi + vùng hằng định chứa arginin).

SEQ ID NO.54 là trình tự phiên bản 3 của chuỗi nhẹ của Hu1H7 (vùng biến đổi + vùng hằng định không chứa arginin).

SEQ ID NO.54 là trình tự phiên bản 3 của chuỗi nặng của Hu1H7 (vùng biến đổi + vùng hằng định).

SEQ ID NO.56 là trình tự phiên bản 3 của chuỗi nặng của Hu1H7 (vùng biến đổi + vùng hằng định; alotyp G1m3).

SEQ ID NO.57 là vùng hằng định chuỗi nặng của Hu1H7 (IgG2).

SEQ ID NO.58 là vùng hằng định chuỗi nặng của Hu1H7 (alotyp G1m1).

Thuật ngữ

Kháng thể đơn dòng thường được tạo ra ở dạng đã tách riêng. Tức là kháng thể thường có độ tinh khiết ít nhất bằng 50% khối lượng/khối lượng của các protein và đại phân tử khác có nguồn gốc từ quá trình sản xuất hoặc tinh chế nó nhưng không loại trừ khả năng kháng thể đơn dòng được kết hợp với lượng dư chất mang được dùng hoặc tá được khác để thuận tiện cho việc sử dụng nó. Đôi khi kháng thể đơn dòng có độ tinh khiết ít nhất bằng 60%, 70%, 80%, 90%, 95 hoặc 99% khối lượng/khối lượng của các protein và đại phân tử khác từ quá trình sản xuất hoặc tinh chế.

Khả năng gắn kết đặc hiệu của kháng thể đơn dòng với kháng nguyên đích của nó có nghĩa là ái lực ít nhất bằng 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , hoặc 10^{10} M^{-1} . Quá trình gắn kết đặc hiệu có cường độ phát hiện mạnh hơn và có tính phân biệt hơn so với gắn kết không đặc hiệu xảy ra ở ít nhất một đích không liên quan. Quá trình gắn kết đặc hiệu có thể là kết quả của việc tạo ra liên kết giữa các nhóm chức cụ thể hoặc tính thích ứng không gian cụ thể (ví dụ, kiểu chốt và khóa), trong khi đó quá trình gắn kết không đặc hiệu thường là kết quả của lực van der Waals. Tuy nhiên, quá trình gắn kết đặc hiệu không nhất thiết khi cho rằng kháng thể đơn dòng gắn kết với một và chỉ một đích.

Đơn vị cấu trúc cơ bản của kháng thể là cấu trúc tứ phân của các cấu trúc siêu phân tử. Mỗi cấu trúc tứ phân bao gồm hai cặp giống nhau là mạch polypeptit, mỗi cặp có một chuỗi “nhẹ” (khoảng 25 kDa) và một chuỗi “nặng” (nằm trong khoảng từ 50 đến 70 kDa). Phần đầu amino của mỗi chuỗi bao gồm vùng biến đổi có khoảng từ 100 đến 110 axit amin hoặc nhiều hơn chủ yếu là đáp ứng với quá trình nhận diện kháng nguyên. Vùng biến đổi này được biểu hiện liên kết ban đầu với peptit tín hiệu dễ phân cắt. Vùng biến đổi không có peptit tín hiệu đôi khi được gọi là vùng biến đổi hoàn chỉnh. Do vậy, ví dụ, vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có nghĩa là vùng biến đổi chuỗi nhẹ không có peptit tín hiệu trên chuỗi nhẹ. Đầu tận cùng carboxy của mỗi chuỗi xác định vùng hằng định chủ yếu đáp ứng với chức năng cảm ứng.

Các chuỗi nhẹ được phân loại dưới dạng kappa hoặc lambda. Các chuỗi nặng được phân loại dưới dạng gamma, mu, alpha, delta, hoặc epsilon, và xác định isotyp của kháng thể lần lượt là IgG, IgM, IgA, IgD và IgE. Trong các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, các vùng biến đổi và ổn định được nối với nhau bởi vùng “J” gồm khoảng 12 axit amin hoặc nhiều hơn, đối với chuỗi nặng cũng bao gồm vùng “D” gồm khoảng 10 axit amin hoặc nhiều hơn. (Xem tổng thể, *Fundamental Immunology* (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7, được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn).

Các vùng biến đổi hoàn chỉnh của mỗi cặp chuỗi nhẹ/nặng tạo ra vị trí gắn kết kháng thể. Do vậy, kháng thể nguyên vẹn có hai vị trí liên kết. Ngoại trừ kháng thể chức kép hoặc đặc hiệu kép, hai vị trí liên kết này là giống nhau. Các chuỗi có cùng cấu trúc chung của vùng khung (FR) đã được bảo toàn tương đối được nối với nhau bởi vùng siêu biến đổi, còn được gọi là vùng xác định bổ sung hoặc CDR. Các CDR từ hai chuỗi của mỗi cặp được sắp hàng bởi các vùng khung, có khả năng gắn kết với epitop đặc hiệu. Từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C, cả chuỗi nhẹ lẫn chuỗi nặng bao gồm các vùng FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 và FR4. Việc chuyển các axit amin tới mỗi vùng là theo định nghĩa Kabat, trình tự của các protein miễn dịch nhất định (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). Kabat cũng đưa ra quy ước đánh số được sử dụng rộng rãi (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat) trong đó các gốc tương ứng giữa các chuỗi nặng khác nhau hoặc giữa các chuỗi nhẹ khác nhau được quy ước là có cùng một số (ví dụ, H83 có nghĩa là vị trí 83 bằng cách đánh số

Kabat trong vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh; tương tự, vị trí L36 có nghĩa là vị trí 36 bằng cách đánh số Kabat trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh). Sơ đồ đánh số Kabat được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ các vị trí trong vùng biến đổi của kháng thể nếu không được chỉ định rõ ràng theo cách khác.

Thuật ngữ “kháng thể” bao gồm các kháng thể nguyên vẹn và mảnh gắn kết của chúng. Thông thường, các mảnh này cạnh tranh với kháng thể nguyên vẹn mà chúng có nguồn gốc từ các mảnh để gắn kết đặc hiệu với đích bao gồm các chuỗi nặng, chuỗi nhẹ tách riêng Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂C, kháng thể kép, Dabs, các thể nano, và Fv. Các mảnh có thể được tạo ra bởi kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc bằng enzym hoặc tách hóa học globulin miễn dịch nguyên vẹn. Thuật ngữ “kháng thể” cũng bao gồm kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc kháng thể được làm giống như của người. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc chức kép là kháng thể lai nhân tạo có hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau và hai vị trí liên kết khác nhau (xem, ví dụ, Songsivilai and Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-53 (1992)). Trong một số kháng thể đặc hiệu kép, hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ 1H7 được làm giống như của người nặng và cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ đặc hiệu với epitop khác trên alpha synuclein so với epitop đã gắn kết bởi 1H7.

Trong một số kháng thể, một cặp chuỗi nhẹ chuỗi nặng là kháng thể 1H7 được làm giống như của người như được mô tả tiếp dưới đây và cặp chuỗi nhẹ chuỗi nặng này có nguồn gốc từ kháng thể gắn kết với thụ thể được biểu hiện trên hàng rào máu não, như thụ thể insulin, thụ thể yếu tố tăng trưởng tương tự insulin (insulin-like growth factor - IGF), thụ thể leptin, hoặc thụ thể lipoprotein, hoặc tốt hơn là thụ thể transferrin (Friden et al., PNAS 88:4771-4775, 1991; Friden et al., Science 259:373-377, 1993). Kháng thể đặc hiệu kép như vậy có thể được chuyển qua hàng rào máu não bởi quá trình xuyên bào qua thụ thể. Khả năng hấp thu ở não của kháng thể đặc hiệu kép có thể còn được tăng lên bằng cách tạo ra kháng thể đặc hiệu kép để làm giảm ái lực của nó với thụ thể ở hàng rào máu não. Ái lực giảm đối với thụ thể làm mức phân bố ở não rộng hơn (xem, ví dụ, Atwal. et al. *Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra43, 2011; Yu et al. *Sci. Trans. Med.* **3**, 84ra44, 2011).

Ví dụ về kháng thể đặc hiệu kép cũng có thể là (1) kháng thể vùng biến đổi kép (dual-variable-domain antibody - DVD-Ig), trong đó mỗi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng lần

lượt chứa hai vùng biến đổi thông qua liên kết peptit ngắn (Wu et al., Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In: Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) Tandab, là thể dung hợp của hai kháng thể kép chuỗi đơn tạo ra kháng thể đặc hiệu kép hóa trị bốn có hai vị trí liên kết đối với mỗi kháng nguyên đích; (3) kháng thể phức hợp, là dạng kết hợp của scFvs với kháng thể kép tạo ra phân tử đa hóa trị; (4) phân tử được gọi là phân tử “cập bến và khóa”, dựa trên “vùng dime hóa và cập bến” trong Protein kinase A, mà khi được áp dụng với các Fab, có thể tạo ra protein gắn kết đặc hiệu kép hóa trị ba cấu thành từ hai mảnh Fab giống nhau được liên kết với mảnh Fab khác nhau; (5) phân tử Scorpion, bao gồm, ví dụ, hai scFvs ngưng tụ với vị trí cuối của vùng Fc người. Ví dụ về nền hữu ích để điều chế kháng thể đặc hiệu kép bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở BiTE (Micromet), DART (MacroGenics), Fcab và Mab2 (F-star), Fc-được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền IgG1 (Xencor) hoặc DuoBody (dựa trên sự trao đổi nhánh Fab, Genmab).

Thuật ngữ “epitop” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà kháng thể gắn kết vào. Epitop có thể được tạo ra từ các axit amin kế tiếp hoặc axit amin không kế tiếp nằm liền kề nhau bằng cách gấp ba lần một hoặc nhiều protein. Các epitop đã tạo ra từ các axit amin kế tiếp thường được giữ lại để làm các dung môi biến tính, trái lại các epitop đã tạo ra bằng cách gấp ba lần thường bị mất đi trong quá trình xử lý bằng các dung môi biến tính. Epitop thường bao gồm ít nhất 3 axit amin, và tốt hơn là ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin trong cấu dạng không gian duy nhất. Các phương pháp xác định cấu dạng không gian của epitop bao gồm, ví dụ, tạo tinh thể tia X và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều. Xem, *ví dụ*, Epitop Mapping Protocol, in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).

Các kháng thể nhận diện cùng loại epitop hoặc các epitop chồng lên nhau có thể được xác định trong thử nghiệm miễn dịch đơn giản để chứng tỏ khả năng cạnh tranh của một kháng thể với khả năng gắn kết của kháng thể khác với kháng nguyên đích. Epitop của kháng thể cũng có thể được xác định bằng cách tạo tinh thể tia X của kháng thể đã gắn kết với kháng nguyên của nó để xác định các góc tiếp xúc. Theo cách khác, hai kháng thể có cùng epitop nếu tất cả các thể đột biến axit amin trong kháng nguyên bị yếu đi hoặc mất khả năng gắn kết của một kháng thể thì nó sẽ bị yếu đi hoặc mất khả năng gắn kết của kháng thể khác. Hai kháng thể có các epitop chồng lên nhau nếu một số đột

biến axit amin bị yếu đi hoặc mất khả năng gắn kết của một kháng thể thì sẽ bị yếu đi hoặc mất khả năng gắn kết của kháng thể khác.

Quá trình cạnh tranh giữa các kháng thể được xác định theo thử nghiệm trong đó kháng thể trong thử nghiệm ức chế khả năng gắn kết đặc hiệu của kháng thể so sánh với kháng nguyên thông thường (xem, ví dụ, Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990). Kháng thể thử nghiệm cạnh tranh với kháng thể so sánh nếu lượng dư kháng thể thử nghiệm (ví dụ, ít nhất gấp 2, 5, 10, 20 hoặc 100 lần) ức chế khả năng gắn kết của kháng thể so sánh ít nhất 50%, nhưng tốt hơn là 75%, 90% hoặc 99% như được xác định trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh. Các kháng thể đã xác định bởi thử nghiệm cạnh tranh (kháng thể cạnh tranh) bao gồm các kháng thể gắn kết với cùng epitop làm kháng thể so sánh và các kháng thể gắn kết với epitop liền kề ở đầu đủ gần để epitop gắn kết bởi kháng thể so sánh để làm cản trở không gian.

Thuật ngữ “đối tượng bị bệnh” bao gồm người hoặc động vật có vú khác cần điều trị hoặc phòng ngừa.

Nhằm mục đích phân loại các phân tử thể axit amin ở dạng bảo toàn hoặc không bảo toàn, các axit amin được phân nhóm như sau: Nhóm I (mạch bên kỵ nước): met, ala, val, leu, ile; Nhóm II (mạch bên ưa nước trung tính): cys, ser, thr; Nhóm III (mạch bên có tính axit): asp, glu; Nhóm IV (mạch bên có tính bazơ): asn, gln, his, lys, arg; Nhóm V (các gốc làm ảnh hưởng tới hướng của mạch): gly, pro; và Nhóm VI (mạch bên thơm): trp, tyr, phe. Các phân tử thể bảo toàn bao gồm các phân tử thể nằm giữa các axit amin trong cùng một nhóm. Các phân tử thể không bảo toàn tạo ra quá trình tích điện một phần của một trong số các nhóm này đối với một phần nhóm khác.

Tỷ lệ tương đồng trình tự được xác định bằng trình tự kháng thể được sắp hàng tối đa theo quy ước của hệ thống đánh số thứ tự Kabat. Sau khi sắp hàng, nếu vùng kháng thể của đối tượng (ví dụ, toàn bộ vùng biến đổi hoàn chỉnh của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ) cần so sánh với cùng một vùng của kháng thể so sánh, thì tỷ lệ tương đồng trình tự giữ vùng kháng thể của đối tượng và vùng kháng thể so sánh là số vị trí bị chiếm giữ bởi cùng loại axit amin ở cả vùng kháng thể của đối tượng và kháng thể so sánh chia cho tổng số vị trí đã sắp hàng của hai vùng này, với các khe không được đếm, nhân với 100 để chuyển sang tỷ lệ phần trăm.

Chế phẩm hoặc phương pháp “bao gồm” một hoặc nhiều nguyên tố đã nêu có thể bao gồm các nguyên tố khác không được nêu cụ thể. Ví dụ, chế phẩm bao gồm kháng thể có thể chứa kháng thể riêng rẽ hoặc kết hợp với các thành phần khác.

Việc xác định khoảng giá trị bao gồm toàn bộ các số nguyên nằm trong hoặc xác định khoảng này, và toàn bộ các khoảng phụ đã được xác định theo các số nguyên nằm trong khoảng này.

Trừ khi có chỉ định khác rõ ràng so với ngữ cảnh, thuật ngữ “khoảng” bao hàm các giá trị nằm trong sai số giới hạn tiêu chuẩn của phép đo (standard margin of error of measurement - SEM) của giá trị đã nêu.

Cá thể có nguy cơ bị bệnh cao nếu đối tượng có ít nhất một yếu tố nguy cơ đã biết (ví dụ, di truyền, yếu tố sinh hóa, tiền sử gia đình, tình trạng dễ mắc) ở các cá thể có yếu tố nguy cơ phát triển thành bệnh có ý nghĩa thống kê cao hơn so với các cá thể không có yếu tố nguy cơ.

Thuật ngữ “triệu chứng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ bằng chứng chủ quan của bệnh, như đáng đi thay đổi, như được cảm nhận bởi đối tượng bị bệnh. “Dấu hiệu” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ bằng chứng chủ quan của bệnh như được quan sát bởi thầy thuốc.

Có ý nghĩa thống kê tức là $p \leq 0,05$.

Thuật ngữ “chức năng nhận thức” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các quá trình về trí tuệ như quá trình bất kỳ hoặc toàn bộ về sự tập trung, trí nhớ, ngôn ngữ phát triển và hiểu biết, giải quyết vấn đề, và có mối quan tâm tới mọi người xung quanh và khả năng tự chăm sóc bản thân.

Thuật ngữ “chức năng nhận thức được tăng cường” hoặc “chức năng nhận thức được cải thiện” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự cải thiện so với mức nền, ví dụ, chẩn đoán hoặc bắt đầu điều trị. “Suy giảm chức năng nhận thức” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự giảm sút về chức năng so với mức nền này.

Trong hệ thống mô hình động vật như chuột hoặc chuột nhắt, chức năng nhận thức có thể được xác định bằng các phương pháp sử dụng mê cung trong đó các đối tượng sử

dụng thông tin về không gian (ví dụ, thử nghiệm mê cung nước Morris, mê cung tròn Barnes, mê cung nhánh tăng dần, mê cung T và các thử nghiệm khác), tình trạng sợ hãi, mất hoạt động, trường mở đã chiếu sáng, dụng cụ đo hoạt động trong bóng tối, mê cung tăng dần, thử nghiệm thăm dò hai ngăn hoặc thử nghiệm bơi bắt buộc

Ở người, chức năng nhận thức có thể được xác định bằng một hoặc nhiều thử nghiệm tiêu chuẩn. Ví dụ về thử nghiệm hoặc thực nghiệm chức năng nhận thức đã được mô tả (Ruoppila, I. and Suutama, T. Scand. J. Soc. Med. Suppl. 53,44-65, 1997) và bao gồm các thử nghiệm thần kinh tiêu chuẩn (ví dụ, thang điểm về trí nhớ Wechsler, thang điểm về hiểu biết ở người lớn Wechsler, Ma trận về mức độ tiến bộ tiêu chuẩn Raven, Thử nghiệm về khả năng trí tuệ ở người lớn Schaie-Thurstone), thử nghiệm tâm lý thần kinh (ví dụ, Luria-Nebraska), tự đánh giá về trí tuệ-nhận thức (ví dụ, Bảng câu hỏi về trí tuệ-trí nhớ), thử nghiệm sàng lọc khả năng nhìn (ví dụ, các hình vẽ Poppelreuter, nhận thức Clock, hình vẽ và từ bỏ Honeycomb), thử nghiệm sàng lọc nhận thức (ví dụ, thử nghiệm trạng thái trí tuệ mini Folstein) và thử nghiệm thời gian phản ứng. Các thử nghiệm tiêu chuẩn khác về tính năng nhận thức bao gồm thang điểm phụ về nhận thức của thang điểm đánh giá bệnh Alzheimer (ADAS-cog); thang điểm thay đổi biểu hiện toàn thể lâm sàng (thang điểm kết hợp CIBIC); thang điểm về hoạt động nghiên cứu hợp tác của lối sống hàng ngày của bệnh Alzheimer (ADCS-ADL); thử nghiệm tình trạng trí tuệ mini (MMSE); Bảng tóm tắt thần kinh trí tuệ (NPI); thang điểm đánh giá bệnh sa sút trí tuệ lâm sàng (CDR); pin tự động thử nghiệm tâm lý thần kinh Cambridge (CANTAB) hoặc đánh giá lâm sàng Sandoz-lão khoa (SCAG), thử nghiệm Stroop, tạo dấu vết, chiều dài Wechsler Digit, và thử nghiệm nhận thức CogState được điện toán. Ngoài ra, chức năng nhận thức có thể được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật chụp ảnh như chụp X quang phát pozitron (Positron Emission Tomography - PET), chụp cộng hưởng từ hạt nhân chức năng (functional magnetic resonance imaging - fMRI), chụp X quang phát photon đơn lẻ được tính toán (Single Photon Emission Computed Tomography - SPECT), hoặc kỹ thuật chụp ảnh bất kỳ khác cho phép xác định chức năng não.

I. Tổng quan

Sáng chế đề cập đến kháng thể 1H7 được làm giống như của người (kháng thể Hu1H7). Các kháng thể này là hữu ích để điều trị và chẩn đoán bệnh do thể Lewy.

II. Phân tử đích

Alpha-synuclein thể đại của người là peptit có 140 axit amin có trình tự axit amin dưới đây:

MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH
GVATVAEKTQ EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL
GKNEEGAPQE GILEDMPVDP DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA (SEQ ID NO.1)

(Uéda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:11282-6, 1993; Số truy nhập ngân hàng gen: P37840). Protein này có 3 vùng nhận biết, vùng lặp lại KTKE bao gồm các axit amin 1-61, vùng NAC (thành phần không chứa tinh bột) nằm trong khoảng từ axit amin 60 đến 95, và vùng axit có đầu tận cùng C nằm trong khoảng từ axit amin 98 đến 140. Jensen và đồng tác giả đã báo cáo NAC có trình tự axit amin: EQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFV (SEQ ID NO.2) (Jensen et al., Biochem. J. 310 (Pt 1): 91-94, 1995; Số truy nhập Ngân hàng gen S56746). Uéda và đồng tác giả đã báo cáo NAC có trình tự axit amin: KEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGS (SEQ ID NO.3) (Uéda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:11282-6, 1993).

Trừ khi có chỉ định khác, khi đề cập đến alpha-synuclein hoặc các mảnh của nó tức là bao gồm các trình tự axit amin thể đại của người nêu trên, và các biến thể alotyp của người của chúng, cụ thể là các dạng liên quan tới bệnh do thể Lewy (ví dụ, E46K, A30P và A53T, với chữ cái đầu tiên dùng để chỉ axit amin trong SEQ ID NO.12, chữ số là vị trí codon trong SEQ ID NO.1, và chữ cái thứ hai là axit amin trong biến thể alotyp). Các biến thể này có thể tùy ý có mặt riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp trong khía cạnh bất kỳ của sáng chế được mô tả dưới đây. Các đột biến được cảm ứng E83Q, A90V, A76T, làm gia tăng quá trình kết tụ alpha synuclein, cũng có thể có mặt riêng lẻ hoặc kết hợp với nhau và/hoặc các biến thể alotyp E46K, A30P và A53T người.

III. Bệnh do thể Lewy

Bệnh do thể Lewy (LBD) được đặc trưng bởi quá trình thoái biến hệ dopaminergic, biến đổi chức năng vận động, suy giảm nhận thức, và quá trình tạo ra các thể Lewy (LB). (McKeith et al., Neurology (1996) 47:1113-24). Các thể Lewy là các mảng lắng đọng

protein hình cầu tìm thấy được ở các tế bào thần kinh. Sự có mặt của chúng trong não làm phá vỡ chức năng bình thường của não, làm gián đoạn tác động của chất truyền thông tin hóa học bao gồm axetylcholin và dopamin. Bệnh do thể Lewy bao gồm bệnh Parkinson (bao gồm bệnh Parkinson tự phát), bệnh do thể Lewy lan tỏa (DLBD) còn được gọi là bệnh sa sút trí tuệ kèm theo thể Lewy (DLB), các dạng biến đổi của thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBV), bệnh Alzheimer và Parkinson kết hợp và bệnh teo đa hệ thống (MSA; ví dụ, teo trám cầu tiểu não, thoái hóa thể vân chất đen và hội chứng Shy-Drager). DLBD có cùng các triệu chứng của bệnh Alzheimer và bệnh Parkinson. DLBD khác với bệnh Parkinson chủ yếu ở vị trí của các thể Lewy. Trong các thể Lewy của DLBD chủ yếu tạo ra ở vỏ não. Ở bệnh Parkinson, chúng chủ yếu tạo ra ở vùng chất xám. Bệnh do thể Lewy khác bao gồm rối loạn thần kinh tự động đơn thuần, chứng nuốt khó thể Lewy, LBD ngẫu nhiên, và LBD có kế thừa (ví dụ, thoái biến gen alpha-synuclein, PARK3 và PARK4).

IV. Kháng thể theo sáng chế

A. Độ đặc hiệu gắn kết và hoạt tính

Các kháng thể được làm giống như của người theo sáng chế gắn kết đặc hiệu với alpha synuclein của người. Ái lực của một số kháng thể được làm giống như của người (tức là K_a) tốt hơn là nằm trong hệ số 5 hoặc 2 so với ái lực của kháng thể của chuột nhắt (m1H7). Một số kháng thể được làm giống như của người có ái lực tương đương, trong khoảng SEM, như m1H7. Một số kháng thể được làm giống như của người có ái lực lớn hơn ái lực của 1H7 của chuột nhắt. Tốt hơn nếu kháng thể được làm giống như của người gắn kết với cùng epitop và/hoặc cạnh tranh với m1H7 để gắn kết với alpha synuclein của người.

B. Kháng thể được làm giống như của người

Kháng thể được làm giống như của người là kháng thể đã được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền trong đó các CDR từ kháng thể “cho” không phải người được ghép vào trình tự kháng thể “nhận” của người (xem, ví dụ, Queen et al., US5,530,101 và 5,585,089; Winter et al., US 5,225,539, Carter, US 6,407,213, Adair, US 5,859,205 6,881,557, Foote, US 6,881,557). Trình tự kháng thể nhận có thể là, ví dụ, trình tự vùng biến đổi kháng thể hoàn chỉnh của người, hỗn hợp của các trình tự này, trình tự liên ứng

của trình tự kháng thể người (ví dụ, trình tự liên ứng vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của Kabat, 1991, nêu trên), hoặc vùng biến đổi trình tự dòng mầm phôi.

Ví dụ về trình tự nhận đối với chuỗi nặng là vùng biến đổi hoàn chỉnh chuỗi nặng của người với mã truy nhập NCBI BAC02037 (GI: 21670055). Trình tự nhận này bao gồm hai CDR có cùng dạng tiêu chuẩn như chuỗi nặng 1H7 của chuột nhắt và có mức tương đồng trình tự bằng 65,8% trong khung vùng biến đổi chuỗi nặng. Nếu trình tự nhận khác được sử dụng, thì trình tự nhận này có thể là ví dụ, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh của người, có nguồn gốc từ dòng mầm phôi VH1-18 hoặc trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh liên hợp với một trong số các trình tự dòng mầm phôi này.

Đối với chuỗi nhẹ, ví dụ về trình tự nhận là vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh với mã truy cập NCBI AAY33358 (GI:63102905). Trình tự nhận này bao gồm hai CDR có cùng dạng tiêu chuẩn như chuỗi nhẹ 1H7 của chuột nhắt và có mức tương đồng trình tự bằng 65,4% trong khung vùng biến đổi chuỗi nặng. Nếu trình tự nhận khác được sử dụng, thì trình tự nhận này có thể là ví dụ, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của người, có nguồn gốc từ dòng mầm phôi A30 hoặc trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh liên hợp với một trong số các trình tự dòng mầm phôi này.

Kháng thể được làm giống như của người theo sáng chế là kháng thể có bchuỗi nhẹ và ba chuỗi nặng CDR như được xác định theo Kabat toàn bộ hoặc về cơ bản là từ kháng thể cho 1H7 của chuột nhắt và trình tự khung của vùng biến đổi hoàn chỉnh và vùng hằng định, nếu có mặt, toàn bộ hoặc về cơ bản là từ trình tự kháng thể người. Tương tự, chuỗi nặng được làm giống như của người là chuỗi nặng có ba chuỗi nặng CDR như được xác định theo Kabat toàn bộ hoặc về cơ bản là từ chuỗi nặng của kháng thể 1H7 của chuột nhắt, và trình tự biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh và trình tự vùng hằng định chuỗi nặng, nếu có mặt, toàn bộ hoặc về cơ bản là từ trình tự chuỗi nặng kháng thể người. Tương tự, chuỗi nhẹ được làm giống như của người là chuỗi nhẹ có bchuỗi nhẹ CDR như được xác định theo Kabat toàn bộ hoặc về cơ bản là từ chuỗi nhẹ của kháng thể m1H7 của chuột nhắt, và trình tự biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh và trình tự vùng hằng định chuỗi nhẹ, nếu có mặt, toàn bộ hoặc về cơ bản là từ trình tự chuỗi nhẹ kháng thể người. CDR về cơ bản là từ m1H7 nếu ít nhất 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% gốc tương ứng là tương đồng với các gốc tương ứng trong

CDR tương ứng của m1H7. Trình tự khung của vùng biến đổi hoàn chỉnh của chuỗi kháng thể hoặc trình tự vùng hằng định của chuỗi kháng thể về cơ bản là lần lượt từ trình tự khung của miền biến đổi hoàn chỉnh của người hoặc trình tự vùng hằng định của người khi ít nhất 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% các gốc tương ứng đã được xác định theo Kabat là tương đồng.

Một số axit amin từ các gốc vùng khung vùng biến đổi hoàn chỉnh của người có thể được chọn để thay thế dựa trên ảnh hưởng của chúng lên cấu dạng CDR và/hoặc khả năng gắn kết với kháng nguyên, thông qua tương tác giữ các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, tương tác với vùng ổn định, là vị trí để cải biến sau dịch mã thích hợp hoặc không thích hợp, là gốc không phổ biến đối với vị trí của nó trên trình tự vùng biến đổi của người và từ đó có thể tạo ra tác dụng miễn dịch trong các lý do khác. 11 vị trí khung vùng biến đổi dưới đây được xem là vị trí dự tuyển để thay thế một hoặc nhiều lý do này như được nêu cụ thể trong phần Ví dụ (L46F, Y49C, F83A, V11L, T28S, R38K, M48I, V67A, M69L, T71A, Y91F).

Trong bản mô tả này, gốc được đề cập lần đầu tiên là gốc của kháng thể được làm giống như của người đã tạo ra bằng cách ghép các CDR Kabat vào khung nhận của người, và gốc được đề cập lần thứ hai là gốc để thế gốc này. Do đó, trong các khung vùng biến đổi, gốc được đề cập lần đầu tiên là gốc của người và trong các CDR, gốc được đề cập lần đầu tiên là gốc của chuột (ví dụ, C97S).

Việc thế axit amin có thể được thực hiện trong các CDR. Một cách biến đổi là thế một số gốc nhất định trong các CDR của kháng thể 1H7 của chuột với các gốc tương ứng từ trình tự CDR của người, thường là từ các CDR của trình tự nhận của người dùng để tạo ra kháng thể được làm giống như của người minh họa. Trong một số kháng thể, chỉ một phần CDR, tức là phân nhóm của các gốc CDR cần thiết cho việc gắn kết, được gọi là SDR, cần được duy trì khả năng gắn kết trong kháng thể được làm giống như của người. Các gốc CDR không tiếp xúc với kháng nguyên và không nằm trong các SDR có thể được xác định dựa trên các nghiên cứu trước đây (ví dụ, các gốc H60-H65 trong CDR H2 thường không cần thiết), từ các vùng của CDR Kabat nằm ngoài vòng siêu biến Chothia (Chothia, J. Mol. Biol. 196:901, 1987), bằng cách tạo mẫu phân tử và/hoặc theo kinh nghiệm, hoặc như được mô tả trong Gonzales et al., Mol. Immunol. 41:863 (2004). Trong các kháng thể được làm giống như của người như vậy ở các vị trí trong đó một

hoặc nhiều gốc CDR cho là không có mặt hoặc trong đó CDR cho nguyên vẹn bị khuyết, axit amin chiếm giữ vị trí này có thể là axit amin chiếm giữ vị trí tương ứng (bằng cách đánh số Kabat) trong trình tự kháng thể nhận. Nhiều quá trình thể trình tự nhận này đối với các axit amin cho trong các CDR được bao gồm để phản ứng mức cân bằng của các nghiên cứu cạnh tranh. Việc thể này là có lợi để làm giảm số lượng axit amin của chuột trong kháng thể được làm giống như của người và từ đó làm giảm khả năng tạo miễn dịch. Tuy nhiên, việc thể này cũng có thể làm thay đổi ái lực, và tốt hơn nếu tránh được mức giảm đáng kể ái lực này. Các vị trí thể trong các CDR và axit amin cần thể cũng có thể được chọn lọc theo kinh nghiệm.

Một lý do để tiến hành thể trong CDR là gốc của chuột là vị trí của quá trình cải biến sau dịch mã có thể gây cản trở sự biểu hiện hoặc lắp ráp kháng thể. Tại đây, vị trí H97 nằm trong CDRH3, được chiếm giữ bởi C trong 1H7 của chuột được xác định là vị trí thể.

11 vị trí đột biến ngược của khung vùng biến đổi và 1 vị trí thể CDR đã nêu trên có thể được hợp nhất vào các kháng thể được làm giống như của người 1H7 trong nhiều kiểu hoán vị. Vùng biến đổi chuỗi nặng của các kháng thể này có thể được thể hiện bởi trình tự bao gồm QVQLVQSGAE-X₁-KKPGASVKVSCKASGY-X₂-FTSYIHWV-X₃-QAPGQGLEW-X₄-GWIYPGSGNTKYSEKFKGR-X₅-T-X₆-T-X₇-DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY-X₈-CARDG-X₉-YGFAYWGQGTLVTVSS, trong đó -X₁- là V hoặc L; -X₂- là S hoặc T; -X₃- là R hoặc K; -X₄- là M hoặc I; -X₅- là V hoặc A; -X₆- là M hoặc L; -X₇- là T hoặc A; -X₈- là Y hoặc F; -X₉- là C, M, S, hoặc T (SEQ ID NO.46). Trong một số vùng biến đổi chuỗi nặng, -X₉- là C. Một số vùng biến đổi chuỗi nhẹ có thể được thể hiện bởi trình tự bao gồm DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGKAPK-Z₁-LI-Z₂-AASNLESGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPED-Z₃-ATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK, trong đó -Z₁- là L hoặc F; -Z₂- là Y hoặc C; -Z₃- là F hoặc A (SEQ ID NO.47). Trong một số kháng thể vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO.46 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO.47. Ví dụ, các gốc, X₁ và X₃ của SEQ ID NO.48 là V và R, tương ứng. Ví dụ, các gốc, X₅-và X₇ của SEQ ID NO.46 là A và gốc Z₁ của SEQ ID NO.47 là F. Ví dụ, các gốc, -X₄, X₆, và X₈ của SEQ

ID NO.46 a là M, M, và Y, tương ứng, và gốc Z_2 và $_3$ của SEQ ID NO.47 là C và F, tương ứng. Ví dụ, các gốc, X_2 và X_9 của SEQ ID NO.48 là T và C, tương ứng.

Một số kháng thể chứa hai vị trí thể chuỗi nặng và hai vị trí thể chuỗi nhẹ. Ví dụ, vị trí H67 được chiếm giữ bởi A, H71 được chiếm giữ bởi A, vị trí L46 được chiếm giữ bởi F, và vị trí L49 được chiếm giữ bởi C. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin là SEQ ID NO.23. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có trình tự axit amin là SEQ ID NO.37. Ví dụ, in H3L3 (Hu1H7VHv3 (SEQ ID NO.23)-Hu1H7VLv3 (SEQ ID NO.37)), vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin là SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh có trình tự axit amin là SEQ ID NO.37.

Sáng chế đề cập đến biến thể của kháng thể được làm giống như của người H3L3 trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh được làm giống như của người có trình tự tương đồng ít nhất bằng 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO.23 và chuỗi nặng được làm giống như của người vùng biến đổi hoàn chỉnh có trình tự tương đồng ít nhất bằng 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO.37. Một số kháng thể được làm giống như của người như vậy bao gồm ba chuỗi nặng và bchuỗi nhẹ CDR toàn bộ hoặc về cơ bản là tương đồng với các vùng CDR của H3L3, là tương tự như các trình tự của kháng thể nhận của chuột nhắt. Các vùng CDR có thể được định nghĩa bằng cách định nghĩa thông thường bất kỳ (ví dụ, Chothia) nhưng tốt hơn nếu được đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat.

Một số biến thể của kháng thể được làm giống như của người H3L3 vẫn giữ được một số hoặc toàn bộ các đột biến ngược trong H3L3. Mặt khác, ít nhất 1, 2, 3 hoặc tốt hơn là toàn bộ 4 vị trí sau là có mặt: H67 được chiếm giữ bởi A, và H71 được chiếm giữ bởi A, L46 được chiếm giữ bởi F, và vị trí L49 được chiếm giữ bởi C.

Ngoài việc giữ ít nhất 1, 2, 3 hoặc tốt hơn là toàn bộ 4 đột biến ngược của H3L3, các kháng thể được làm giống như của người 1H7 cũng có thể chứa đột biến ngược bổ sung trong các khung vùng biến đổi. Ví dụ về các đột biến ngược này bao gồm H11 được chiếm giữ bởi L, H28 được chiếm giữ bởi S, H38 được chiếm giữ bởi K, H48 được chiếm giữ bởi I, H69 được chiếm giữ bởi L, H91 được chiếm giữ bởi F, và/hoặc L83 được chiếm giữ bởi A. Để chọn lọc đột biến ngược cho sản phẩm điều trị hoặc chẩn đoán,

người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần xem xét mức độ mà chúng thường không làm cải thiện ái lực và mức độ mà việc đưa nhiều gốc của chuột nhất có thể làm tăng nguy cơ tạo tính miễn dịch. Ví dụ, H3L1 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh của SEQ ID NO.23, và chuỗi nhẹ của SEQ ID NO.33. Ví dụ, H4L1 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh của SEQ ID NO.25, và chuỗi nhẹ của SEQ ID NO.33.

Phương pháp biến đổi khác là sử dụng trình tự nhận khác của người như đã nêu trên. Việc thế trong các vùng CDR có thể xảy ra như đã nêu trên, ví dụ, ở vị trí H97, nhưng trước khi chọn lọc việc thế như vậy cho sản phẩm điều trị hoặc chẩn đoán, chuyên gia trong lĩnh vực cần xem xét ảnh hưởng tới ái lực và sự biểu hiện kháng thể.

Nếu vị trí H97 ở CDRH3 của chuột nhất không phải là xystein, thì tốt hơn nếu nó được chiếm giữ bởi M, S, hoặc T. Một số kháng thể bao gồm chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm Kabat CDR1 của SEQ ID NO.12: SYYIH; Kabat CDR2 của SEQ ID NO.13: WIYPGSGNTKYSEKFKG; Kabat CDR3 của SEQ ID NO.48: DG-X₉-YGFAY, trong đó -X₉- là C, M, S, hoặc T, tốt hơn là C. Một số kháng thể bao gồm chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm Kabat CDR1 của SEQ ID NO.15: KASQSVDDYDGDSYMN; Kabat CDR2 của SEQ ID NO.16: AASNLES; Kabat CDR3 của SEQ ID NO.17: QQSNEPFT. Một số kháng thể bao gồm chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm ba CDR Kabat có các SEQ ID NO.12, 13, và 48 và chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm ba CDR Kabat có các SEQ ID NO.15-17. Trong một số kháng thể này, chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm ba CDR Kabat có SEQ ID NO.12-14 và chuỗi nặng được làm giống như của người bao gồm ba CDR Kabat có SEQ ID NO.15-17.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến kháng thể 1H7 được làm giống như của người trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh được làm giống như của người có mức tương đồng ít nhất bằng 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% hoặc 100% so với các SEQ ID NO.19, 21, 23, 25, và 27 và vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh được làm giống như của người có mức tương đồng ít nhất bằng 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% hoặc 100% so với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO.33, 35, 37 và 39.

Các cách hoán vị khác của 11 khung vùng biến đổi đột biến ngược và 1 đột biến CDR như đã nêu trên có thể được kết hợp vào các kháng thể 1H7 được làm giống như

của người. Trong một số kháng thể này, vị trí L46 được chiếm giữ bởi L hoặc F (tốt hơn là F) và/hoặc vị trí L49 được chiếm giữ bởi Y hoặc C (tốt hơn là C) và/hoặc vị trí L83 được chiếm giữ bởi F hoặc A, và/hoặc vị trí H11 được chiếm giữ bởi V hoặc L, và/hoặc vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, và/hoặc vị trí H38 được chiếm giữ bởi R hoặc K, và/hoặc vị trí H48 được chiếm giữ bởi M hoặc I, và/hoặc vị trí H67 được chiếm giữ bởi V hoặc A (tốt hơn là A), và/hoặc vị trí H69 được chiếm giữ bởi M hoặc L, và/hoặc vị trí H71 được chiếm giữ bởi T hoặc A (tốt hơn là A), và/hoặc vị trí H91 được chiếm giữ bởi Y hoặc F, và/hoặc vị trí H28 được chiếm giữ bởi S hoặc T, và/hoặc vị trí H97 được chiếm giữ bởi C hoặc M hoặc S hoặc T (tốt hơn là C).

Trong một số kháng thể này, một số hoặc toàn bộ đột biến ngược trong Hu1H7VLv1-v4 và Hu1H7VHv1-v5 được giữ lại. Tốt hơn nếu đột biến ngược ở các vị trí L46, H67, và H71 được giữ lại. Mặt khác, vị trí L46 được chiếm giữ bởi F, vị trí H67 được chiếm giữ bởi A, và vị trí H71 được chiếm giữ bởi A. Tốt hơn nữa nếu đột biến ngược ở các vị trí L46, L49, H67, và H71 được giữ lại. Mặt khác, vị trí L46 được chiếm giữ bởi F, vị trí L49 được chiếm giữ bởi C, vị trí H67 được chiếm giữ bởi A, và vị trí H71 được chiếm giữ bởi A. Trong một số kháng thể, một số hoặc toàn bộ các vị trí chuỗi nặng H11, H28, H38, H48, H67, H69, H71, và/hoặc H91 lần lượt được chiếm giữ bởi L, S, K, I, A, L, A, và F. Tương tự trong một số kháng thể, một số hoặc toàn bộ các vị trí chuỗi nhẹ L46, L49 và/hoặc L83 lần lượt được chiếm giữ bởi F, C và A. Trong một số kháng thể, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc toàn bộ mười vị trí H11, H28, H38, H48, H67, H69, H71, H91, L46, L49 và L83 lần lượt được chiếm giữ bởi L, S, K, I, A, L, A, F, F, C và A. Trong một số kháng thể, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, hoặc 7 vị trí được biến đổi trong khung vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh so với SEQ ID NO.44, và 0, 1, 2, hoặc 3 vị trí được biến đổi trong khung vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh so với SEQ ID NO.45. Trong một số kháng thể này, vị trí H97 được chiếm giữ bởi C. Tốt hơn nếu kháng thể được làm giống như của người có K_D đối với alpha-synuclein nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2 so với kháng thể của chuột hoặc kháng thể khảm 1H7.

Trong một số kháng thể, vị trí L46 được chiếm giữ bởi F, vị trí H67 được chiếm giữ bởi A, vị trí H71 được chiếm giữ bởi A, vị trí H11 được chiếm giữ bởi V, và vị trí H38 được chiếm giữ bởi R. Trong một số kháng thể này, vị trí L49 được chiếm giữ bởi Y. Tốt hơn nữa nếu trong một số kháng thể này, vị trí L49 được chiếm giữ bởi C. Trong

một số kháng thể này, vị trí L83 được chiếm giữ bởi F. Trong một số kháng thể này, vị trí L83 được chiếm giữ bởi A. Trong một số kháng thể này, vị trí H97 được chiếm giữ bởi C. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi M, vị trí H69 được chiếm giữ bởi M và vị trí H91 được chiếm giữ bởi Y. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi M, vị trí H69 được chiếm giữ bởi M và vị trí H91 được chiếm giữ bởi F. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi M, vị trí H69 được chiếm giữ bởi L và vị trí H91 được chiếm giữ bởi Y. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi M, vị trí H69 được chiếm giữ bởi L và vị trí H91 được chiếm giữ bởi F. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi I, vị trí H69 được chiếm giữ bởi M và vị trí H91 được chiếm giữ bởi Y. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi I, vị trí H69 được chiếm giữ bởi M và vị trí H91 được chiếm giữ bởi F. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi I, vị trí H69 được chiếm giữ bởi L và vị trí H91 được chiếm giữ bởi Y. Trong một số kháng thể này, vị trí H28 được chiếm giữ bởi T hoặc S, vị trí H48 được chiếm giữ bởi I, vị trí H69 được chiếm giữ bởi L và vị trí H91 được chiếm giữ bởi F. Trong một số kháng thể này, vị trí H11 được chiếm giữ bởi L, và/hoặc vị trí H38 được chiếm giữ bởi K, và/hoặc vị trí H97 được chiếm giữ bởi S.

Trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên, việc thế axit amin khác có thể được thực hiện trong khung vùng biến đổi hoàn chỉnh, ví dụ, trong các gốc không gắn kết với các CDR. Thông thường, việc thay thế đã được thực hiện trong các trình tự biến đổi được làm giống như của người được bảo toàn về các axit amin đã được thế. Trong một số kháng thể, việc thay thế so với Hu1H7VLv1-v4 và Hu1H7VHv1-v5 (có hoặc không được bảo toàn) không có ảnh hưởng đáng kể lên ái lực gắn kết hoặc hiệu lực của kháng thể thu được so với Hu1H7VLv1-v4 và Hu1H7VHv1-v5, tức là khả năng gắn kết của nó với alpha synuclein của người.

Các biến thể thường khác không nhiều so với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của Hu1H7VLv1-v4 và Hu1H7VHv1-v5 (ví dụ, thường

không quá 1, 2, 3, 5 hoặc 10 trong các khung vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng hoàn chỉnh, hoặc cả hai) về đoạn thể, đoạn khuyết hoặc đoạn xen.

C. Chọn lọc vùng hằng định

Vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể được làm giống như của người có thể được liên kết với ít nhất một phần vùng hằng định của người. Việc chọn lọc vùng hằng định phụ thuộc vào, một phần, độc tính tế bào phụ thuộc kháng thể, thực bào phụ thuộc kháng thể và/hoặc độc tính tế bào bổ sung có xảy ra hay không. Ví dụ, các chất đồng vị IgG1 và IgG3 của người có độc tính tế bào phụ thuộc bổ sung và các isotyp IgG2 và IgG4 của người lại không có độc tính này. IgG1 và IgG3 của người cũng gây chức năng cảm ứng qua trung gian tế bào mạnh hơn so với IgG2 và IgG4 của người. Vùng hằng định chuỗi nhẹ có thể là lambda hoặc kappa. Vùng hằng định kappa chuỗi nhẹ của người đại diện có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.49. Arginin có đầu tận cùng N có SEQ ID NO.49 có thể bị khuyết, trong trường hợp vùng hằng định kappa chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.51. Vùng hằng định chuỗi nặng IgG1 của người đại diện có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.50. Vùng hằng định chuỗi nặng IgG2 của người đại diện có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.57. Các kháng thể có thể được biểu hiện dưới dạng cấu trúc tứ phân chứa hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng, là các chuỗi nặng, chuỗi nhẹ riêng biệt, như Fab, Fab', F(ab')₂, và Fv, hoặc dưới dạng kháng thể chuỗi đơn trong đó các vùng biến đổi hoàn chỉnh chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được liên kết qua vùng đệm.

Các vùng hằng định của người có biến thể allotyp và biến thể isotyp giữa các cá thể khác nhau, tức là các vùng hằng định này có thể khác nhau trong các cá thể khác nhau ở một hoặc nhiều vị trí đa hình. Các isotyp khác nhau về các allotyp ở chỗ huyết thanh nhận biết isotyp sẽ gắn kết với vùng không đa hình của một hoặc nhiều isotyp khác. Do vậy, ví dụ, vùng hằng định chuỗi nặng khác là allotyp IgG1 G1m1 hoặc IgG1 G1m3 và có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.52 hoặc SEQ ID NO.55. Vùng hằng định chuỗi nặng khác nữa có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.52 hoặc SEQ ID NO.55 chỉ khác là nó không có lysin ở đầu tận cùng C.

Một hoặc một vài axit amin ở đầu amino hoặc carboxy của chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng, như lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng, có thể bị thiếu hoặc có nguồn gốc

từ một phần hoặc toàn bộ phân tử. Việc thế có thể được tiến hành trong vùng hằng định để làm giảm hoặc làm tăng chức năng cảm ứng như độc tính tế bào bổ sung hoặc ADCC (ví dụ, xem Winter et al., Patent Mỹ số 5,624,821; Tso et al., Patent Mỹ số 5,834,597; và Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), hoặc để kéo dài thời gian bán thải ở người (ví dụ, xem Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Việc thế đại diện bao gồm Gln ở vị trí 250 và/hoặc Leu ở vị trí 428 (việc đánh số EU được sử dụng trong đoạn này đối với vùng hằng định) để làm tăng thời gian bán thải của kháng thể. Việc thế ở vị trí bất kỳ hoặc toàn bộ các vị trí 234, 235, 236 và/hoặc 237 làm giảm ái lực đối với các thụ thể Fc γ , cụ thể là thụ thể Fc γ RI (ví dụ, xem US 6,624,821). Một số kháng thể có alanin được thế ở các vị trí 234, 235 và 237 của IgG1 người để làm giảm chức năng cảm ứng. Tùy ý, các vị trí 234, 236 và/hoặc 237 trong IgG2 người được thế bằng alanin và vị trí 235 được thế bằng glutamin (xem, ví dụ, US 5,624,821).

Trong một số kháng thể, vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin là SEQ ID NO.49. Trong một số kháng thể, vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin là SEQ ID NO.52. Ví dụ về các chuỗi nặng Hu1H7 có SEQ ID NO.53 hoặc SEQ ID NO.54. Ví dụ về các chuỗi nặng Hu1H7 có trình tự axit amin của SEQ ID NO.55 hoặc SEQ ID NO.56. Trong một số kháng thể, chuỗi nhẹ là SEQ ID NO.53. Trong một số kháng thể, chuỗi nặng là SEQ ID NO.56.

D. Biểu hiện kháng thể tái tổ hợp

Các kháng thể có thể được sản sinh bằng cách biểu hiện tái tổ hợp. Axit nucleic mã hóa các kháng thể này có thể được tối ưu codon để biểu hiện trong loại tế bào mong muốn (ví dụ, CHO hoặc Sp2/0). Cấu trúc axit nucleic tái tổ hợp thường bao gồm trình tự đối chứng biểu hiện được liên kết điều khiển với trình tự mã hóa của chuỗi kháng thể, bao gồm vùng khởi đầu tự nhiên hoặc khác loại. Trình tự đối chứng biểu hiện có thể là hệ vùng khởi đầu của tế bào có nhân điển hình trong vector có khả năng biến nạp hoặc gây nhiễm tế bào đích có nhân điển hình. Ngay khi vector được đưa vào vật chủ thích hợp, vật chủ này được giữ trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện trình tự nucleotit ở nồng độ cao, và thu thập và tinh chế các kháng thể phản ứng chéo. Vector hoặc vector mã hóa chuỗi kháng thể có thể còn chứa gen dễ chọn lọc, như dihydrofolat reductaza, để khuếch đại nhiều bản sao của axit nucleic mã hóa các chuỗi kháng thể này.

E. coli là vật chủ nhân sơ, cụ thể được sử dụng để biểu hiện các kháng thể, cụ thể là các mảnh kháng thể. Vi khuẩn, như nấm men cũng thích hợp để biểu hiện. *Saccharomyces*, là vật chủ nấm men được lấy làm ví dụ, với vector thích hợp có trình tự đối chứng biểu hiện, điểm khởi đầu tái bản, trình tự kết thúc và các đặc tính tương tự nếu muốn. Các vùng khởi đầu thường bao gồm 3-phosphoglyxerat kinaza và các enzym glycolytic khác. Các vùng khởi đầu cảm ứng của nấm men bao gồm, trong số các gen khác, vùng khởi đầu từ dehydroaza rượu, isoxytochrom C, và enzym đáp ứng với quá trình tiêu thụ maltoza và galactoza.

Các tế bào động vật có vú có thể được sử dụng để biểu hiện các đoạn nucleotit mã hóa globulin miễn dịch hoặc các mảnh của nó. Xem Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987). Nhiều dòng tế bào vật chủ thích hợp có khả năng tiết protein nguyên vẹn khác loại đã được phát triển trong lĩnh vực kỹ thuật này, và bao gồm dòng tế bào CHO, các dòng tế bào COS khác nhau, tế bào HeLa, tế bào HEK293, tế bào L, và u tủy không sản sinh ra kháng thể bao gồm Sp2/0 và NS0. Có thể có lợi để sử dụng tế bào không phải là người. Các vector biểu hiện đối với các tế bào này có thể bao gồm trình tự đối chứng biểu hiện, như điểm khởi đầu tái bản, vùng khởi đầu, vùng tăng cường (Queen et al., *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), và vị trí thông tin xử lý cần thiết, như vị trí liên kết ribosom, vị trí phân cắt ARN, vị trí polyadenyl hóa, và trình tự kết thúc phiên mã. Các trình tự đối chứng biểu hiện thích hợp là vùng khởi đầu có nguồn gốc từ gen nội sinh, xytomegalovirut, SV40, adenovirut, papilomvirut của bò, và các gen tương tự. Xem Co et al., *J. Immunol.* 148:1149 (1992).

Khi đã chuyển các vector mã hóa kháng thể chuỗi nặng và chuỗi nhẹ vào môi trường tế bào, thì các vốn tế bào có thể được sàng lọc để tái tạo quá trình phát triển và chất lượng sản phẩm trong môi trường không có huyết thanh. Các vốn tế bào tạo ra ở đầu sau đó có thể được tạo các tế bào đơn chứa FACS để tạo ra các đơn dòng. Tốt hơn nếu hiệu suất đặc hiệu là trên 50 pg hoặc 100 pg/tế bào/ngày, tương ứng với nồng độ sản phẩm lớn hơn 7,5 g/L môi trường. Các kháng thể được sản sinh bởi các dòng tế bào đơn cũng có thể được thử nghiệm về độ đục, đặc tính lọc, PAGE, IEF, quét UV, HP-SEC, sắp xếp carboyđrat-oligosacarit, quang phổ khối, và thử nghiệm gắn kết, như ELISA hoặc Biacore. Dòng đã chọn tiếp đó có thể được dồn vào nhiều lọ nhỏ và được bảo quản đông lạnh để sử dụng tiếp theo.

Ngay khi được biểu hiện, các kháng thể có thể được tinh chế theo các phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm bất giữ protein A, cột sắc ký (ví dụ, tương tác kỵ nước hoặc trao đổi ion), giảm độ pH để bất hoạt virus và các phương pháp tương tự (xem tổng quan, Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, NY, 1982)).

Phương pháp sản xuất các kháng thể trên thị trường bao gồm tối ưu hóa codon, chọn lọc vùng khởi đầu, đoạn phiên mã, và vùng kết thúc, tạo dòng tế bào đơn không chứa huyết thanh, thu gom tế bào, sử dụng chất đánh dấu chọn lọc để khuếch đại bản sao, vùng kết thúc CHO, tạo dòng tế bào đơn không chứa huyết thanh, cải thiện nồng độ protein (ví dụ, xem US 5,786,464, US 5,888,809, US 6,063,598, US 6,114,148, US 7,569,339, WO2004/050884, WO2005/019442, WO2008/012142, WO2008/012142, WO2008/107388, và WO2009/027471).

E. Axit nucleic

Sáng chế cũng đề cập đến axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ bất kỳ đã nêu trên. Thông thường, các axit nucleic cũng mã hóa peptit tín hiệu đã ngưng tụ với chuỗi nặng và chuỗi nhẹ hoàn chỉnh (ví dụ, peptit tín hiệu có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.29, SEQ ID NO.31 và SEQ ID NO.41 có thể được mã hóa bởi axit nucleic có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.28, SEQ ID NO.30 và SEQ ID NO.40). Các trình tự mã hóa trên axit nucleic có thể nằm trên liên kết điều khiển chứa trình tự điều hòa để đảm bảo việc biểu hiện trình tự mã hóa, như vùng khởi đầu, vùng tăng cường, vị trí gắn kết ribosom, tín hiệu kết thúc phiên mã và các yếu tố tương tự. Các axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể có mặt ở dạng riêng biệt hoặc có thể được tách dòng vào một hoặc nhiều vector. Các axit nucleic có thể được tổng hợp bằng cách, ví dụ, tổng hợp trạng thái rắn hoặc PCR oligonucleotit chồng lợp. Axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được nối với nhau dưới dạng một axit nucleic kế tiếp, ví dụ, nằm trong vector biểu hiện, hoặc có thể được tách riêng, ví dụ, mỗi axit nucleic được tách dòng vào chính vector biểu hiện của nó.

V. Ứng dụng điều trị

Sáng chế đưa ra một số phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa hiệu quả bệnh do thể Lewy ở đối tượng bị bệnh hoặc có nguy cơ mắc bệnh này. Đối tượng bị bệnh cần được điều trị bao gồm các cá thể có nguy cơ bị bệnh LBD nhưng không biểu hiện các

triệu chứng, cũng như đối tượng bị bệnh đã có các triệu chứng hoặc các dấu hiệu cảnh báo sớm của bệnh do lắng đọng bất thường synuclein, ví dụ, làm chậm EEG, các biểu hiện của bệnh thần kinh tâm thần (bệnh trầm cảm, bệnh sa sút trí tuệ, ảo giác, lo âu, lãnh đạm, mất khoái cảm), thay đổi tự phát (giảm huyết áp thể đứng, rối loạn bàng quang, chứng táo bón, đại tiện không tự chủ, tăng tiết nước bọt, chứng nuốt khó, rối loạn chức năng sinh dục, thay đổi khả năng lưu thông máu não), thay đổi cảm giác (khứu giác, đau, cảm nhận bất thường về khả năng phân biệt màu), rối loạn giấc ngủ (rối loạn hành vi giấc ngủ REM (RBD), hội chứng chân không ngừng/rối loạn vận động các chi theo chu kỳ, chứng ngủ lịm, chứng mất ngủ) và các dấu hiệu kết hợp khác và các triệu chứng (mệt mỏi, chứng nhìn đôi, nhìn nhòe, tiết nhiều bã nhờn, giảm/tăng trọng lượng). Do đó, các phương pháp theo sáng chế có thể được dùng để phòng ngừa cho cá thể có yếu tố di truyền của bệnh LBD. Các cá thể này bao gồm những người đã từng mắc bệnh này, và những người có nguy cơ đã được xác định bằng cách phân tích chất đánh dấu di truyền hoặc sinh hóa. Các chất đánh dấu di truyền hướng tới PD bao gồm các đột biến ở gen alpha-synuclein hoặc Parkin, UCHL1, và CYP2D6; cụ thể là đột biến ở vị trí 30 và 53 của gen alpha-synuclein. Cá thể bị bệnh Parkinson có thể được nhận biết từ biểu hiện lâm sàng của nó bao gồm giảm tình trạng run, cơ cứng, chậm vận động và mất ổn định tư thế.

Ở đối tượng bị bệnh không có triệu chứng, việc điều trị có thể bắt đầu ở độ tuổi bất kỳ (ví dụ, 10, 20, 30). Thông thường, tuy nhiên, không cần thiết để bắt đầu việc điều trị cho đến khi đối tượng bị bệnh đạt độ tuổi 40, 50, 60 hoặc 70. Việc điều trị thường đòi hỏi dùng đa liều trong một khoảng thời gian. Việc điều trị có thể được kiểm tra bằng cách thử nghiệm kháng thể, hoặc tế bào T hoặc tế bào B đã hoạt hóa đáp ứng với chất điều trị (ví dụ, dạng alpha-synuclein peptit đã cắt) theo thời gian. Nếu đáp ứng không đạt được, liều lượng tăng lên được chỉ định.

Các kháng thể có thể được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa hiệu quả bệnh do thể Lewy ở đối tượng bị bệnh bằng cách dùng trong các điều kiện tạo ra đáp ứng điều trị thích hợp ở đối tượng bị bệnh (ví dụ, giảm mảng kết tụ viêm dây thần kinh và/hoặc alpha synuclein trên sợi trục, thuyên giảm chứng loạn dưỡng viêm dây thần kinh, cải thiện chức năng nhận thức, và/hoặc thay đổi, điều trị hoặc ngăn ngừa sự suy giảm nhận thức) ở đối tượng bị bệnh. Theo một số phương pháp, vùng bị chứng loạn dưỡng viêm dây thần kinh ở mạng lưới thần kinh của vỏ não mới và/hoặc hạch đáy não có thể được giảm trung bình

ít nhất 10%, 20%, 30%, hoặc 40% ở đối tượng bị bệnh được điều trị so sánh với nhóm đối chứng.

Suy giảm nhận thức, suy giảm tiến triển ở chức năng nhận thức, thay đổi hình thái não, và thay đổi chức năng chức năng mạch máu não thông quan sát được ở đối tượng bị bệnh mắc hoặc có nguy cơ bị bệnh do thể Lewy. Việc dùng các kháng thể theo sáng chế có thể ức chế hoặc làm chậm sự suy giảm chức năng nhận thức ở đối tượng bị bệnh này.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp thay đổi hoặc làm tăng mật độ synap thần kinh và/hoặc mật độ tế bào hình cây. Chỉ số thay đổi mật độ synap thần kinh hoặc mật độ tế bào hình cây có thể được xác định bằng chất đánh dấu quá trình tạo ra synap (synaptophysin) và/hoặc các tế bào hình cây (MAP2). Theo một số phương pháp, mật độ synap thần kinh hoặc mật độ tế bào hình cây có thể được phục hồi tới mức của mật độ synap thần kinh hoặc tế bào hình cây giống ở người khỏe mạnh. Theo một số phương pháp, mức trung bình của mật độ synap thần kinh hoặc mật độ tế bào hình cây ở đối tượng bị bệnh được điều trị có thể tăng lên 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% hoặc cao hơn so với nhóm đối tượng bị bệnh đối chứng không được điều trị.

VI. Dược phẩm và phương pháp điều trị

Trong các ứng dụng phòng bệnh, kháng thể hoặc các chất cảm ứng kháng thể hoặc được phẩm chứa nó được dùng cho đối tượng bị bệnh mắc cảm với, hoặc theo cách khác nguy cơ bị bệnh trong phác đồ (liều dùng, số lần dùng và đường dùng) hiệu quả để làm giảm nguy cơ, thuyên giảm mức độ trầm trọng, hoặc làm chậm sự khởi phát của ít nhất một dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh. Trong một số ứng dụng phòng bệnh, phác đồ dùng là hữu hiệu để ức chế hoặc làm chậm sự tích tụ của alpha synuclein và các mảnh đã cắt trong não, và/hoặc ức chế hoặc làm chậm tác dụng gây độc của nó và/hoặc ức chế/hoặc làm chậm quá trình phát triển của thiếu hụt hành vi. In các ứng dụng điều trị, kháng thể hoặc chất để cảm ứng kháng thể được dùng cho đối tượng bị bệnh nghi có, hoặc đã bị bệnh do thể Lewy trong phác đồ (liều dùng, số lần dùng đường dùng) hiệu quả để cải thiện hoặc ít nhất còn ức chế sự phá hủy của ít nhất một dấu hiệu hoặc triệu chứng bệnh. Trong một số ứng dụng điều trị, phác đồ dùng là hữu hiệu để làm giảm hoặc ít nhất còn ức chế sự gia tăng nồng độ alpha synuclein và các mảnh đã cắt, các độc tố liên quan và/hoặc thiếu hụt hành vi.

Phác đồ được xem là có tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa nếu đối tượng bị bệnh đã được điều trị có kết quả có lợi hơn so với kết quả trung bình ở nhóm đối chứng gồm các đối tượng bị bệnh so sánh không được điều trị bằng các phương pháp của sáng chế, hoặc nếu kết quả có lợi hơn được chứng minh trong đối tượng bị bệnh đã được điều trị so với đối tượng bị bệnh đối chứng trong nghiên cứu lâm sàng có đối chứng (ví dụ, nghiên cứu pha II, pha II/III hoặc pha III) ở mức $p < 0,05$ hoặc 0,01 hoặc ngay cả ở mức 0,001.

Liều hữu hiệu thay đổi tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, bao gồm cách dùng, vị trí đích, tình trạng sinh lý của đối tượng bị bệnh bao gồm loại bệnh do thể Lewy, xem liệu đối tượng bị bệnh có phải là người mang ApoE, đối tượng bị bệnh là người hoặc động vật, thuốc khác được dùng, và xem việc điều trị là có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị hay không.

Khoảng liều đại diện đối với các kháng thể nằm trong khoảng từ 0,01 đến 5 mg/kg, và thông nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3 mg/kg hoặc nằm trong khoảng từ 0,15 đến 2 mg/kg hoặc nằm trong khoảng từ 0,15 đến 1,5 mg/kg thể trọng của đối tượng bị bệnh. Kháng thể có thể được dùng các liều này hằng ngày, vào ngày khác, hàng tuần, hai tuần một lần, hàng tháng, hàng quý, hoặc theo liệu trình khác bất kỳ được xác định bằng cách phân tích theo kinh nghiệm. Việc điều trị đại diện cần dùng đa liều trong khoảng thời gian dài, ví dụ, ít nhất 6 tháng. Phác đồ điều trị bổ sung đại diện cần dùng một lần trong hai tuần hoặc một lần trong một tháng hoặc một lần trong 3 đến 6 tháng.

Các kháng thể có thể được dùng theo đường dùng ngoài (tức là đường dùng trong đó kháng thể đã dùng hoặc cảm ứng đi qua hàng rào máu não để tới vị trí xác định ở não. Các đường dùng bao gồm tại chỗ, tĩnh mạch, đường uống, dưới da, trong động mạch, trong sọ, trong vỏ, trong màng bụng (IP), qua mũi hoặc trong cơ. Một số đường dùng kháng thể là theo đường tĩnh mạch và dưới da. Vị trí tiêm hầu hết thường được thực hiện ở cơ tay hoặc cơ chân. Theo một số phương pháp, các chất được tiêm trực tiếp vào mô cụ thể trong đó các mảng lắng phủ đã được tích lũy, ví dụ, tiêm trong sọ.

Dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể là vô trùng và về cơ bản là đẳng trương và được sản xuất trong các điều kiện GMP. Dược phẩm có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị (tức là liều lượng đối với mỗi lần dùng đơn lẻ). Dược phẩm có thể được bào chế bằng cách sử dụng một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, tá dược hoặc chất

bổ trợ chấp nhận về mặt sinh lý. Chế phẩm tùy thuộc vào đường dùng thuốc đã chọn. Để tiêm, các kháng thể có thể được bào chế ở dạng dung dịch trong nước, tốt hơn là ở chất đệm tương thích sinh học như dung dịch Hank, dung dịch Ringer, hoặc đệm nước muối hoặc axetat sinh lý (để làm giảm sự khó chịu ở vị trí tiêm). Dung dịch có thể chứa các chất cấu thành như chất tạo hỗn dịch, chất làm ổn định và/hoặc chất phân tán. Theo cách khác, các kháng thể có thể ở dạng đông khô nhanh để tạo ra với chất dẫn thuốc thích hợp, ví dụ, nước vô trùng không chứa chất gây sốt, trước khi sử dụng.

Phác đồ theo sáng chế có thể được dùng kết hợp với chất khác có tác dụng trong điều trị hoặc phòng ngừa bệnh cần được điều trị. Ví dụ, trong trường hợp bệnh Parkinson, trị liệu miễn dịch đối với alpha synuclein WO/2008/103472, levodopa, chất chủ vận dopamin, chất ức chế COMT, chất ức chế MAO-B, amantadine, hoặc chất kháng cholinergic có thể được sử dụng kết hợp với phác đồ theo sáng chế.

VII. Các ứng dụng khác

Các kháng thể đã nêu trên có thể được sử dụng để phát hiện alpha-synuclein trong chẩn đoán hoặc điều trị lâm sàng hoặc trong nghiên cứu. Các kháng thể cũng có thể được bán dưới dạng chất phản ứng nghiên cứu đối với nghiên cứu trong phòng thí nghiệm trong việc phát hiện các tế bào mang alpha-synuclein và đáp ứng của chúng với các kích thích khác nhau. Trong các ứng dụng này, kháng thể đơn dòng có thể được đánh dấu bằng phân tử phát huỳnh quang, phân tử dán nhãn quay, enzym hoặc isotyp phóng xạ, và có thể được tạo ra dưới dạng bộ kit chứa toàn bộ các chất phản ứng cần thiết để tiến hành thử nghiệm đối với alpha-synuclein. Các kháng thể cũng có thể được sử dụng để tinh chế alpha-synuclein, ví dụ, bằng cách sắc ký ái lực.

Các kháng thể có thể được sử dụng để phát hiện LB ở đối tượng bị bệnh. Các phương pháp này là hữu ích để chẩn đoán hoặc xác nhận việc chẩn đoán bệnh PD, hoặc các bệnh khác đi kèm với sự có mặt của LB trong não, hoặc độ nhạy của chúng. Ví dụ, các phương pháp có thể được sử dụng ở đối tượng bị bệnh có các triệu chứng của bệnh sa sút trí tuệ. Nếu đối tượng bị bệnh mắc LB, thì đối tượng bị bệnh cũng mắc bệnh do thể Lewy, như bệnh Parkinson. Các phương pháp này cũng có thể được sử dụng ở đối tượng bị bệnh không có triệu chứng. Sự có mặt của các thể Lewy hoặc mảng lắng phủ bất thường khác của alpha-synuclein chứng tỏ độ nhạy với bệnh có triệu chứng sau này. Các

phương pháp cũng có tác dụng kiểm soát quá trình tiến triển bệnh và/hoặc đáp ứng với việc điều trị ở đối tượng bị bệnh đã được chẩn đoán mắc bệnh do thể Lewy trước đó.

Các phương pháp có thể được tiến hành bằng cách dùng kháng thể và sau đó phát hiện kháng thể sau khi nó đã gắn kết. Nếu mong muốn, đáp ứng loại bỏ có thể tránh được bằng cách sử dụng mảnh kháng thể không có vùng hằng định có chiều dài đầy đủ, như Fab. Theo một số phương pháp, kháng thể tương tự có thể dùng làm cả chất phản ứng điều trị lẫn chẩn đoán.

Để chẩn đoán (ví dụ, chụp ảnh *in vivo*), các kháng thể có thể được dùng bằng cách tiêm tĩnh mạch vào cơ thể đối tượng bị bệnh, hoặc tiêm trực tiếp vào não bằng cách tiêm trong sọ hoặc bằng cách khoan lỗ trong sọ. Liều lượng của chất phản ứng cần nằm trong khoảng tương tự như đối với các phương pháp điều trị. Thông thường, kháng thể được đánh dấu, mặc dù theo một số phương pháp, kháng thể không được đánh dấu và chất dán nhãn thứ cấp được sử dụng để gắn kết với kháng thể. Việc chọn lọc nhãn tùy thuộc vào cách phát hiện. Ví dụ, nhãn phát huỳnh quang là thích hợp để phát hiện quang học. Việc sử dụng các nhãn thuận từ là thích hợp để phát hiện cắt lớp mà không cần can thiệp bằng phẫu thuật. Nhãn phóng xạ cũng có thể được phát hiện bằng cách sử dụng PET hoặc SPECT.

Việc chẩn đoán được thực hiện bằng cách so sánh số lượng, kích cỡ và/hoặc cường độ khu vực đã dán nhãn so với các giá trị đường nền tương ứng. Các giá trị đường nền có thể là nồng độ trung bình của nhóm cá thể không mắc bệnh. Các giá trị đường nền cũng có thể là nồng độ đã xác định trước trên cùng đối tượng bị bệnh. Ví dụ, các giá trị đường nền có thể được xác định ở đối tượng bị bệnh trước khi bắt đầu điều trị, và các giá trị đã xác định sau đó được so sánh với các giá trị đường nền. Mức giảm của các giá trị so với đường nền chứng tỏ có đáp ứng tích cực với việc điều trị.

Các kháng thể có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể kháng idiotyp. (xem, ví dụ, Greenspan & Bona, FASEB J. 7(5) :437-444, 1989; và Nissinoff, J. Immunol. 147:2429-2438, 1991). Các kháng thể kháng idiotyp này có thể được sử dụng trong các nghiên cứu dược động học, dược lực học, phân bố sinh học cũng như trong các nghiên cứu đáp ứng kháng thể người-kháng-người (anti-huma-anti antibody - HAHA) ở cá thể đã được điều trị bằng các kháng thể. Ví dụ, kháng thể kháng idiotyp gắn kết đặc hiệu vùng biến đổi của

các kháng thể 1H7 được làm giống như của người và do đó có thể được sử dụng để phát hiện các kháng thể 1H7 được làm giống như của người trong nghiên cứu được động học và hỗ trợ để định lượng đáp ứng kháng thể người-kháng-người (HAHA) ở cá thể đã được điều trị.

Toàn bộ các đơn sáng chế, trang web, các công bố khác, số truy cập và các tài liệu tương tự như đã nêu trên hoặc dưới đây được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn nhằm toàn bộ mục đích rộng trong cùng phạm vi vì nếu mỗi tài liệu riêng rẽ được biểu thị cụ thể và riêng biệt cần được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Nếu các dạng trình tự khác nhau có liên quan tới số truy cập ở các thời điểm khác nhau, các dạng này có liên quan tới số truy cập ở ngày nộp đơn thích hợp của đơn này là có ý nghĩa. Ngày nộp đơn thích hợp là ngày trước ngày nộp đơn thực tế hoặc ngày nộp đơn của đơn ưu tiên viện dẫn tới số truy cập nếu thích hợp. Tương tự nếu các dạng khác nhau của công bố đơn, trang web hoặc các tài liệu tương tự được công bố ở các thời điểm khác nhau, thì các dạng được công bố gần nhất ở ngày nộp đơn hữu hiệu của đơn là có nghĩa trừ khi có chỉ định khác. Các đặc điểm, bước, yếu tố, phương án, hoặc khía cạnh bất kỳ của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các dạng khác nếu không được chỉ định cụ thể theo cách khác. Mặc dù sáng chế được mô tả chi tiết bằng cách minh họa và ví dụ nhằm mục đích làm rõ và hiểu rõ hơn, nhưng vẫn hiển nhiên hiểu được rằng một số biến đổi và cải biến nhất định có thể được tiến hành trong phạm vi của phần yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Thiết kế kháng thể 1H7 được làm giống như của người

Điểm khởi đầu hoặc kháng thể cho để làm tương thích với người là kháng thể 1H7 của chuột nhắt được sản sinh bởi tế bào lai có số truy cập ATCC PTA-8220 và được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 11/710,248 (số công bố US2009/0208487. Các trình tự axit amin và axit nucleic biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh của m1H7 lần lượt có trình tự SEQ ID NO.4 và 5. Các trình tự axit amin và axit nucleic biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của m1H7 lần lượt có trình tự SEQ ID NO.6 và 7. Các trình tự axit amin và axit nucleic biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh của m1H7 hoàn chỉnh lần lượt có trình tự SEQ ID NO.8 và 9. Các trình tự axit amin và axit nucleic biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của m1H7 hoàn chỉnh lần lượt có trình tự SEQ ID NO.10 và 11. Các trình tự axit amin

chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 lần lượt có trình tự SEQ ID NOS:12, 13, và 14. Các trình tự axit amin chuỗi nhẹ CDR1, CDR2, và CDR3 lần lượt có trình tự SEQ ID NOS:15, 16, và 17. Việc đánh số Kabat được sử dụng xuyên suốt trong Ví dụ này.

Kappa biến đổi (Vk) của 1H7 thuộc phân nhóm Kabat 3 của chuột nhắt tương ứng với phân nhóm Kabat 1 của người. Chuỗi nặng biến đổi (Vh) của 1H7 thuộc phân nhóm Kabat 5a của chuột nhắt tương ứng với phân nhóm Kabat 1 của người (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242, 1991). CDR-L1 ở gốc 15 thuộc lớp chính thống 5 (lưu ý rằng Metion ở vị trí 33 thường là Leuxin trong nhóm này), CDR-L2 ở gốc 7 thuộc lớp chính thống 1, CDR-L3 ở gốc 9 thuộc lớp chính thống 1 trong Vk (Martin & Thornton, *J Mol Biol.* 263:800-15, 1996). CDR-H1 ở gốc 5 thuộc lớp chính thống 1, CDR-H2 ở gốc 17 thuộc lớp chính thống 2 (Martin & Thornton, *J Mol Biol.* 263:800-15, 1996). CDR-H3 không thuộc lớp chính thống, nhưng vòng gốc 8 có thể có bazơ thắt nút theo quy tắc của Shirai et al., *FEBS Lett.* 455:188-97 (1999).

Các gốc ở vị trí tương tác giữa các vùng Vk và Vh là các gốc thường được tìm thấy, ngoại trừ F46 ở chuỗi kappa thường là Leuxin. Từ đó tạo nên vị trí dự tuyển t để đột biến ngược. Nghiên cứu được tiến hành trên trình tự protein trên dữ liệu PDB (Deshpande et al., *Nucleic Acids Res.* 33: D233-7, 2005) để tìm ra cấu trúc sẽ tạo ra mô hình cấu trúc thô của 1H7. Kháng thể kháng HIV 0,5B có mức tương đồng trình tự toàn phần tốt giống như 1H7 Vk, giữ lại được cấu trúc chính thống tương tự cho các vòng. Cấu trúc NMR của kháng thể kháng HIV 0,5B (pdb mã hóa 1QNZ; Tugarinov et al., *Structure* 8:385-95, 2000) được sử dụng cho cấu trúc Vk trong quá trình thiết kế. Kháng thể axit kháng alpha-(2→8)-polysialic có mức tương đồng trình tự toàn phần tốt giống như cấu trúc 1H7 Vh. CDR-H3 cũng có chiều dài tương tự với bazơ thắt nút. Cấu trúc của kháng thể axit kháng alpha-(2→8)-polysialic (1PLG; Evans et al., *Biochemistry* 34:6737-44, 1995) được xác định một cách thích hợp (2,8A), và được sử dụng cho cấu trúc Vh trong quá trình thiết kế. Ngoài ra, CDRs-H1 và H2 của kháng thể axit kháng alpha-(2→8)-polysialic có cấu trúc chính thống tương tự như 1H7 Vh. DeepView/Swiss-PdvViewer 3,7 (SP5) (Guex & Peitsch, *Electrophoresis* 18: 2714-2723, 1997) được sử dụng cho cấu trúc thô 1H7fv.

Nghiên cứu về dữ liệu trình tự protein không dư thừa từ NCBI cho phép chọn lọc khung thích hợp của người để ghép vào các CDR của chuột. Đối với V κ , chuỗi nhẹ kappa của người có mã truy nhập NCBI AAY33358 (GI:63102905; SEQ ID NO.43) (Kramer et al., Eur J Immunol. 35:2131-45, 2005) được chọn lọc. Nó có cùng các lớp chính thống đối với CDR-L2 và L3, và thuộc dòng mầm phôi kappa A30, nhiều phân nhóm kappa người Kabat 1. AAY33358 có mức tương đồng trình tự bằng 65,4% ở chuỗi nhẹ khung vùng biến đổi đối với chuỗi nhẹ 1H7 của chuột. Đối với V $\hbar$, chuỗi nặng Ig của người BAC02037 (GI:21670055; SEQ ID NO.42) được chọn lọc, thuộc dòng mầm phôi chuỗi nặng của người VH1-18. Nó là thành phần của phân nhóm chuỗi nặng 1 Kabat. Nó có cùng dạng chính thông của 1H7 CDR-H1 và H2, và H3 là 8 gốc nằm dọc theo bazơ nút dự đoán. BAC02037 có mức tương đồng trình tự bằng 65,8% trong khung vùng biến đổi so với chuỗi nặng 1H7 loài gặm nhấm. Trình tự biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được làm giống như của người 1H7 không chứa đột biến ngược hoặc các đột biến CDR có trình tự SEQ ID NO.44-45.

Bốn biến thể vùng biến đổi chuỗi nặng được làm giống như của người và năm biến thể vùng biến đổi chuỗi nặng được làm giống như của người được tạo ra chứa các hoán vị khác nhau của vị trí thể nêu trên (Hu1H7VLv1-v4; các SEQ ID NO.32-39, và Hu1H7VHv1-v5; SEQ ID NO.18-27 tương ứng) (các Fig. 1-2 và Bảng 1). Các SEQ ID NO.19, 21, 23, 25, 27, 33, 35, 37, và 39 kể cả đột biến ngược được thể hiện ở Bảng 1. Ngoài ra, hai chuỗi nặng được làm giống như của người (SEQ ID NOs: 25, 27) kể cả đột biến C $\rightarrow$ S ở vị trí H97 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat) của chuỗi nặng CDR3 (Fig.1-2 và Bảng 1). Các axit amin ở L46, L49, L83, H11, H28, H38, H48, H67, H69, H71, H91, và H97 trong Hu1H7VLv1-v4 và Hu1H7VHv1-v5 được liệt kê ở Bảng 2.

Nhận thấy rằng biến thể H3L3 (hu1H7VHv3 (SEQ ID NO.23)-Hu1H7VLv3 (SEQ ID NO.37) tạo ra sự ổn định phân ly thấp nhất (hằng số phân ly cao nhất), tương tự như 1H7 của chuột trong SEM.

Bảng 1. Độ biến ngược V_H , V_L , và độ biến CDR

Biến thể V_H	Trình tự thể nhận exon V_H	Gốc vùng khung thể cho	Độ biến CDR
Hu1H7VHv1 (SEQ ID NO.19)	Mã truy nhập BAC02037	H11, H28, H38, H48, H67, H69, H71, H91	
Hu1H7VHv2 (SEQ ID NO.21)	Mã truy nhập BAC02037 (SEQ ID NO.42)	H28, H48, H67, H69, H71, H91	
Hu1H7VHv3 (SEQ ID NO.23)	Mã truy nhập BAC02037 (SEQ ID NO.42)	H67, H71	
Hu1H7VHv4 (SEQ ID NO.25)	Mã truy nhập BAC02037 (SEQ ID NO.42)	H28, H48, H67, H69, H71, H91	H97
Hu1H7VHv5 (SEQ ID NO.27)	Mã truy nhập BAC02037 (SEQ ID NO.42)	H67, H71	H97
Biến thể V_L	Trình tự thể nhận exon V_L	Gốc vùng khung thể cho	
Hu1H7VLv1 (SEQ ID NO.33)	Mã truy nhập AAY33358 (SEQ ID NO.43)	L46, L49, L83	
Hu1H7VLv2 (SEQ ID NO.35)	Mã truy nhập AAY33358 (SEQ ID NO.43)	L46, L83	
Hu1H7VLv3 (SEQ ID NO.37)	Mã truy nhập AAY33358 (SEQ ID NO.43)	L46, L49	
Hu1H7VLv4 (SEQ ID NO.39)	Mã truy nhập AAY33358 (SEQ ID NO.43)	L46	

Bảng 2. Hệ thống đánh số thứ tự Kabat của một số các gốc vùng khung đối với độ biến ngược và độ biến CDR trong các kháng thể 1H7 được làm giống như của người

	Chuỗi nhẹ AAY33358	Chuỗi nặng BAC02037	1H7 của chuột nhất	Hu1 H7V H1	Hu1 H7V H2	Hu1 H7V H3	Hu1 H7V H4	Hu1 H7V H5	Hu1 H7V L1	Hu1 H7V L2	Hu1 H7V L3	Hu1 H7V L4
H11	-	V	L	L	V	V	V	V	-	-	-	-
H28		T	S	S	S	T	S	T	-	-	-	-
H38	-	R	K	K	R	R	R	R	-	-	-	-
H48	-	M	I	I	I	M	I	M	-	-	-	-
H67	-	V	A	A	A	A	A	A	-	-	-	-
H69	-	M	L	L	L	M	L	M	-	-	-	-
H71	-	T	A	A	A	A	A	A	-	-	-	-
H91	-	Y	F	F	F	Y	F	Y	-	-	-	-
H97	-	G	C	C	C	C	S	S	-	-	-	-
L46	L	-	F	-	-	-	-	-	F	F	F	F
L49	Y	-	C	-	-	-	-	-	C	Y	C	Y
L83	F	-	A	-	-	-	-	-	A	A	F	F

Lý do cơ bản để chọn lọc các vị trí nêu trên làm vị trí dự tuyển để thể như được nêu dưới đây.

L46F (ở đây hay ở nơi khác đối với đột biến ngược khung, gốc được đề cập lần đầu tiên là gốc của người và gốc thứ hai của chuột nhất): Vị trí này là các gốc bề mặt Vk/Vh.

Y49C: Xystein ở vị trí này ít gặp trong trình tự của chuột nhất hoặc người. Việc chiếm giữ vị trí ở trung tâm của vị trí gắn kết kháng nguyên, thì gốc này có thể gắn kết với kháng nguyên, hoặc duy trì cấu dạng của các vòng.

F83A: Trong vùng khung của người, vị trí này được chiếm giữ bởi phenylalanine - axit amin có cấu trúc lớn. Do đó, A83 sẽ ít gặp trong khung của người. Trong kháng thể được làm giống như của người, vùng ổn định là của người chứ không phải của người, do đó F83 của người thường hay gặp hơn. Tuy nhiên, vị trí ở Vk này nằm gần với vùng ổn định và có thể tương tác bằng cách gói đối với vùng hằng định. Do đó, thích hợp nếu xảy ra quá trình đột biến ngược tới A để xem liệu có sự khác biệt hay không.

V11L: Vị trí này tiếp xúc với vùng ổn định và từ đó có thể làm thay đổi hình dạng của vị trí gắn kết.

T28S: Vị trí này tạo ra cấu dạng CDR-H1, nhưng có thể cũng gắn kết với kháng nguyên. Đột biến T→S là đột biến bảo toàn.

R38K: Vị trí này nằm dưới CDR-H2, tương tác với F63 trong mô hình. Đột biến R→K là đột biến bảo toàn.

M48I: Vị trí này nằm dưới F63 in CDR-H2 trong mô hình. Đột biến M→I là đột biến bảo toàn.

V67A: Vị trí này nằm dưới CDR-H2. Đột biến V→A không phải đột biến bảo toàn.

M69L: Vị trí này nằm dưới CDR-H2. Đột biến M→L là đột biến bảo toàn.

T71A: Vị trí này là gốc chính thống đối với CDR-H2. Đột biến T→A không phải đột biến bảo toàn.

Y91F: Vị trí này là gốc bề mặt tương tác với P44 trong chuỗi nhẹ. Đột biến Y→F là đột biến bảo toàn.

C97S: Đột biến CDR này ở CDRH3 tránh được cải biến sau dịch mã của xystein.

>Hu1H7Vκ Phiên bản 1

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDAATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO.33)

>Hu1H7Vκ Phiên bản 2

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLIYAAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDAATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO.35)

>Hu1H7Vκ Phiên bản 3

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO.37)

>Hu1H7Vκ Phiên bản 4

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLIYAAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO.39)

>Hu1H7vh Phiên bản 1

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKASGYSFTSYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDDGCYGFAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO.19)

>Hu1H7vh Phiên bản 2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDDGCYGFAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO.21)

>Hu1H7vh Phiên bản 3

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDDGCGYGFAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO.23)

>Hu1H7vh Phiên bản 4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYIIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDDGSYGFAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO.25)

>Hu1H7vh Phiên bản 5

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDDGSYGFAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO.27)

Ví dụ 2. Phân tích động học gắn kết của kháng thể 1H7 của chuột, khảm, và được làm giống như của người

Động học gắn kết của các kháng thể 1H7 được làm giống như của người bao gồm chuỗi nặng được chọn từ Hu1H7VHv1-5 và chuỗi nhẹ được chọn từ Hu1H7VLv1-4 được mô tả đặc điểm.

Phân tích động học gắn kết Biacore đầy đủ của các kháng thể được thực hiện bằng cách sử dụng Biacore. Các thông số động học gắn kết chi tiết (tốc độ liên kết, k_a , tốc độ phân ly, k_d , và hằng số ái lực, KD) được xác định đối với các kháng thể 1H7 của chuột (Fig. 3A), 1H7 thể khảm (Fig. 3B) và 1H7 được làm giống như của người (Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv1, Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv1) (Fig. 3C). Các thông số động học gắn kết của 1H7 được làm giống như của người, cụ thể Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3, được so sánh với thông số động học gắn kết của 1H7 của chuột.

Bảng 3. Các thông số động học gắn kết của 1H7loài gặm nhấm, 1H7 thể khảm và 1H7được làm giống như của người (Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv1, Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv1)

Kháng thể	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (nM)
1H7 của chuột	1,0e6	9,6e-3	9,5
1H7 thể khảm	1,7e6	1,3e-2	7,4
1H7 H3L3 được làm giống như của người (Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3)	1,3e6	1,1e-2	9,0
1H7 H3L1 được làm giống như của người (Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv1)	1,1e6	1,3e-2	12
1H7 H4L1 được làm giống như của người (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv1)	9,7e5	3,3e-2	33,9
1H7 H5L1 được làm giống như của người (Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv1)	8,8e5	5,6e-2	64,0
1H7 H4L4 được làm giống như của người (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv4)	N/A *	N/A *	N/A *

* Các thông số động học gắn kết có thể không được xác định đối với Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv4 ở các nồng độ so với các thông số đã sử dụng trong phân tích đối với các kháng thể 1H7 được làm giống như của người hoặc 1H7 của chuột/thể khảm khác.

Động học gắn kết của các kháng thể 1H7 được làm giống như của người cũng được xác định bởi máy đo giao thoa lớp sinh học (BLI) bằng cách sử dụng thiết bị ForteBio Octet QK (ForteBio, Menlo Park, CA). Các thông số động học gắn kết chi tiết (tốc độ liên kết, ka biểu kiến, tốc độ phân ly, kd biểu kiến, và hằng số ái lực, kd biểu kiến) được xác định đối với 1H7 thể khảm và các kháng thể 1H7 được làm giống như của người khác nhau (các bảng 6-7, các Fig. 4A-C). Ka biểu kiến, kd biểu kiến và kd biểu kiến là các thông số động học gắn kết thu được bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm ForteBio. Các thông số này là khác so với ka, kd và K_D đã xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm Biocore do, ví dụ, các tác dụng bám liên quan tới dạng thử nghiệm ForteBio.

Bảng 4. Các thông số động học gắn kết của 1H7 thể khảm và được làm giống như của người 1H7 (Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv1, Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv2, Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv4, Hu1H7VHv2-Hu1H7VLv1, Hu1H7VHv2-Hu1H7VLv2)

Kháng thể	Ka biểu kiến (1/Ms)	Kd biểu kiến (1/s)	Kd biểu kiến (nM)
1H7 thể khảm	4,7e5	1,1e-6	2,3e-3
1H7 H1L1 được làm giống như của người (Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv1)	2,5e5	1,2e-3	4,8
1H7 H1L2 được làm giống như của người (Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv2)	1,6e6	9e-3	5,8
1H7 H1L3 được làm giống như của người (Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv3)	2,2e5	6,4e-4	2,9
1H7 H1L4 được làm giống như của người (Hu1H7VHv1-Hu1H7VLv4)	1,8e6	5,8e-3	3,3
1H7 H2L1 được làm giống như của người (Hu1H7VHv2-Hu1H7VLv1)	5,8e5	4,2e-6	7,2e-3
1H7 H2L2 được làm giống như của người (Hu1H7VHv2-Hu1H7VLv2)	2,3e6	4,6e-3	2

Bảng 5. Các thông số động học gắn kết của 1H7 thể khảm và được làm giống như của người 1H7 (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv2, Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv4, Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv2, Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv3, Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv4)

Kháng thể	Ka biểu kiến (1/Ms)	Kd biểu kiến (1/s)	Kd biểu kiến (nM)
1H7 thể khảm	8,3e5	8,7e-4	1,0
1H7 H4L2 được làm giống như của người (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv2)	1,2e6	2,1e-3	1,7
1H7 H4L3 được làm giống như của người (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv3)	7,4e5	2,0e-3	2,7
1H7 H4L4 được làm giống như của người (Hu1H7VHv4-Hu1H7VLv4)	5,2e5	2,3e-3	4,4
1H7 H5L2 được làm giống như của người (Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv2)	5,2e5	2,1e-3	4,0
1H7 H5L3 được làm giống như của người (Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv3)	7,6e5	2,0e-3	2,6
1H7 H5L4 được làm giống như của người (Hu1H7VHv5-Hu1H7VLv4)	1,6e6	1,9e-3	1,2

Các kháng thể 1H7 được làm giống như của người, cụ thể Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv3 và Hu1H7VHv3-Hu1H7VLv1, có đặc tính nhuộm các vùng khác nhau (ví dụ, thể vân, lớp tế bào hình chóp, võ não, chất xám) của não chuột biến đổi gen hoặc không biến đổi gen tương tự như của 1H7 của chuột.

Ví dụ 2. Miễn dịch thụ động với kháng thể α -synuclein

Mục đích của thử nghiệm này là nhằm xác định hiệu lực của các kháng thể α -synuclein ở các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* cũng như thử nghiệm hành vi. Các tác giả sáng chế sử dụng α -synuclein chuyển gen (Dòng 61), α -synuclein bất hoạt và chuột nhắt cái kiểu hoang, 3-4 tháng tuổi được bắt đầu tận cùng Nghiên cứu và n=14/nhóm. Các kháng thể được thử nghiệm bao gồm 9E4 (IgG1, epitop: axit amin 118-126 của alpha synuclein), 5C1 (IgG1, epitop: axit amin 118-126 của alpha synuclein, liên kết c), 5D12, IgG2 (SN118-126), 1H7, IgG1 (SN 91-99) và kháng thể đối chứng IgG1 27-1. Chuột nhắt nhận liều lượng 10 mg/kg trong khoảng thời gian 5 tháng, với tổng số lần tiêm là 21. Ngoài ra, các con vật được tiêm lentivirut (LV) biểu hiện α -synuclein của người (khối lượng) bằng cách đưa α -synuclein của người (khối lượng) vào một bên đôi hải mã.

Dữ liệu kháng thể bao gồm dữ liệu thu được từ Chemicon (epitop: alpha synuclein có chiều dài đầy đủ), Millipore (epitop: alpha synuclein có chiều dài đầy đủ), và Neotope, ELADW 105 (epitop: axit amin 121-124 của alpha synuclein có chiều dài đầy đủ).

Chỉ tiêu lâm sàng: Các nồng độ kháng thể được xác định trong pha sống. Thử nghiệm hành vi bao gồm thử nghiệm mê cung nước Morris (MWW) và thử nghiệm tia theo chiều dọc. Thử nghiệm trên chòm D xoay tròn là thử nghiệm khả năng thăng bằng vận động, điều hòa và dáng đi được thực hiện bằng cách sử dụng hai xà có đường kính thay đổi. Xà A có đường kính lớn hơn (mức độ dễ hơn, được gọi là xà tập luyện) và xà D có đường kính nhỏ hơn (mức độ khó hơn, được gọi là xà thử nghiệm). Dữ liệu được thể hiện dưới dạng “sai số” (số lần trượt/10cm) và “tốc độ” (thời gian cần để di chuyển 10cm/giây). Tính năng mê cung nước được tiến hành ở tuần 10 và khi kết thúc. Việc xác định bệnh thần kinh dưới đây được tiến hành: kết tụ alpha synuclein, synaptophysin, và MAP2. Việc xác định hóa sinh dưới đây được tiến hành: alpha synuclein, PSD95, synaptophysin. Việc dán đa nhãn và dán nhãn đồng tâm đã được tiến hành bằng cách sử dụng chất đánh dấu synap, noron và chất đánh dấu đệm.

Các kết quả chứng tỏ rằng toàn bộ các kháng thể, ngoại trừ 5D12, đã làm giảm đáng kể khả năng tích tụ α -syn và bảo toàn mật độ synap và tế bào hình cây, cũng như thu được kết quả tích cực về tính năng MWM. Các kháng thể 9E4 có tác dụng trong các

nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* cũng như thử nghiệm hành vi. Thông tin chỉ ra rằng kháng thể có thể làm giảm mảng kết tụ synuclein thần kinh/axon alpha.

Kết quả hành vi: Kháng thể 1H7 (cũng như các kháng thể 9E4 và 5C1) cải thiện được tính năng mê cung nước trong chuột nhắt chuyển gen α -synuclein, trong khi đó kháng thể 5D12 không làm cải thiện tính năng này. Các kháng thể 9E4 và 1H7 cải thiện tính năng trên thử nghiệm xà như được xác định theo cả tốc độ lẫn sai số, trong khi đó các kháng thể 5D12 và 5C1 không làm cải thiện tính năng này (Fig. 6).

Kết quả bệnh thần kinh: Các kháng thể 9E4, 1H7 và 5C1 làm giảm chứng loạn dưỡng viêm dây thần kinh ELADW-105 dương tính, trong khi đó kháng thể 5D12 không có tác dụng làm giảm này. Trong chuột nhắt chuyển gen alpha synuclein, kháng thể 9E4 làm giảm diện tích mạng lưới thần kinh 43% trong vỏ não mới và 40% trong hạch đáy não như được so sánh với nhóm đối chứng. Kháng thể 9E4 cũng bảo toàn được synaptophysin và MAP2 trong vỏ não mới và hạch đáy não.

Lưu trữ

Các dòng tế bào sản sinh kháng thể đơn dòng dưới đây được lưu trữ theo các điều khoản của Hiệp ước Budapest với Cơ quan thu thập môi trường nuôi cấy Mỹ (American Type Culture Collection - ATCC, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108) vào các ngày nêu dưới đây:

Kháng thể đơn dòng	Dòng tế bào	Epitop/ Độ đặc hiệu	Isotyp	Ngày lưu trữ	Số truy cập
1H7	JH17.1H7.4.24.34	alpha-synuclein các gốc 91-99	IgG1	Ngày 26 tháng 02 năm 2007	PTA-8220

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng hiểu được rằng nhiều thay đổi và cải biến có thể được thực hiện theo cách khác mà không xuất phát từ nguyên lý và phạm vi của điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo. Nếu các yếu tố khác là hiển nhiên từ nội dung, bước, đặc tính, phương án hoặc khía cạnh bất kỳ có thể được sử dụng kết hợp với yếu tố khác bất kỳ. Toàn bộ các công bố đơn và đơn sáng chế đề cập trong bản mô tả này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn tới mức nếu mỗi công bố đơn hoặc đơn sáng chế riêng rẽ được nêu một cách cụ thể và một cách riêng rẽ được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Các trình tự theo sáng chế

SEQ ID NO.1: alpha-synuclein thể đại của người

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEKTKQGVAEAAAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVHGVATV
AEKTKAQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFVKKDQLGKNEEGAPQEGILE
DMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEPEA

SEQ ID NO.2: Vùng chứa thành phần không amyloid (NAC) of alpha-synuclein như được báo cáo bởi Jensen et al.

EQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFV

SEQ ID NO.3: Vùng chứa thành phần không amyloid (NAC) của alpha-synuclein như được báo cáo bởi Ueda et al.

KEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGS

SEQ ID NO.4: trình tự nucleotit chuỗi nặng biến đổi của kháng thể m1H7 (peptit tín hiệu được gạch chân; các CDR được in đậm và được gạch chân)

ATGGGATGGAGCTGGGTCTTTATCTTCCTCCTGTCAGGAAGTGCAGGTGTCCATT
GCCAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAG
ATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACAGCTTCACA**AGCTACTATATACACT**GGGTGAAGCA
GAGTCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGA**TGGATTTATCCTGGAAGTGGTAATACTA**
AGTACAGTGAGAAGTTCAAGGGCAAAGGCCACACTGACTGCAGACACATCCTCCAGCACA
GCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAG
A**GATGGTTGCTACGGGTTTGCTTAC**TGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCT

SEQ ID NO.5: trình tự axit amin biến đổi chuỗi nặng của kháng thể m1H7 (peptit tín hiệu được gạch chân; các CDR được in đậm và được gạch chân)

MGWSWVFIFLLSGTAGVHCQVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYSFT**SYIHW**
VKQSPGQGLEWIG**WIYPGSGNTKYSEKFKG**KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYF
CARD**DGCYGFAY**WGQGLVTVS

SEQ ID NO.6: trình tự nucleotit chuỗi nhẹ biến đổi của kháng thể m1H7 (peptit tín hiệu được gạch chân; các CDR được in đậm và được gạch chân)

ATGGAGACAGACACACTCCTGTTATGGGTGCTGCTGCTCTGGGTTCCAGGCTCCA
CTGGTGACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGG
GCCACCATCTCCTGC**AAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAA**
CTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAATTCCTCATCTGT**GCTGCATCCAATC**
TAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTC
AACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGT**CAGCAAAGTAATGA**
GGATCCATTACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

SEQ ID NO.7: trình tự axit amin biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể m1H7 (peptit tín hiệu được gạch chân; các CDR được in đậm và được gạch chân)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATIS**CASQSVDYDGDS**
YMMWYQQKPGQPPKFLIC**AASNLES**GIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC**QQ**
SNEDPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO.8: trình tự nucleotit chuỗi nặng biến đổi của kháng thể m1H7 hoàn chỉnh (các CDR được in đậm và được gạch chân)

GTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGACTTCA
GTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACAGCTTCACA**AGCTACTATATAC**
ACTGGGTGAAGCAGAGTCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGAT**TGGATT**
ATCCTGGAAGTGGTAATACTAAGTACAGTGAGAAGTTCAAGGGCAAGGC
CACACTGACTGCAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGC
CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGAGAT**GGTTGCTACG**
GGTTTGCTTACTTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCT

SEQ ID NO.9 trình tự axit amin biến đổi chuỗi nặng của kháng thể m1H7 hoàn chỉnh (các CDR được in đậm và được gạch chân)

VQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYSFT**SYIHWVKQSPGQGLEWIG****WIYPGSG**
NTKYSEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARD**DGCYGFAY**WGQGLVTV
S

SEQ ID NO.10: trình tự nucleotit chuỗi nhẹ biến đổi của kháng thể m1H7 hoàn chỉnh (các CDR được in đậm và được gạch chân)

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
 CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAAC
 TGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAATTCCTCATCTGTGCTGCATCCAATCT
AGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCA
 ACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGTAATGAG
GATCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

SEQ ID NO.11: trình tự axit amin biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể m1H7 hoàn chỉnh (các CDR được in đậm và được gạch chân)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCASQSVVDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKFLICAAA
SNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO.12: chuỗi nặng CDR1 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

SYIYIH

SEQ ID NO.13: chuỗi nặng CDR2 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

WIYPGSGNTKYSEKFKG

SEQ ID NO.14: chuỗi nặng CDR3 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

DGCYGFAY

SEQ ID NO.15: chuỗi nhẹ CDR1 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

KASQSVVDYDGDSYMN

SEQ ID NO.16: chuỗi nhẹ CDR2 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

AASNLES

SEQ ID NO.17: chuỗi nhẹ CDR3 của kháng thể m1H7 (đánh số thứ tự theo hệ thống đánh số thứ tự Kabat)

QQSNEDPFT

SEQ ID NO.18: Hu1H7VHv1 (trình tự nucleotit)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGCTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGA
AGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCTCCTACTACATCCACTGGGTGAAG
CAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTGGATCTACCCCGGCTCCGGCAACAC
CAAGTACTCCGAGAAGTTCAAGGGCCGCGCCACCCTGACCGCCGACACCTCCACCTCCA
CCGCCTACATGGAGCTGCGCTCCCTGCGCTCCGACGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCC
CGCGACGGCTGCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGTCTC
A

SEQ ID NO.19: Hu1H7VHv1 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKASGYSFT**SYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGS**
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCAR**DGCGYGFAY**WGQGLVT
VSS

SEQ ID NO.20: Hu1H7VHv2 (trình tự nucleotit)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGA
AGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCTCCTACTACATCCACTGGGTGCGC
CAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTGGATCTACCCCGGCTCCGGCAACAC
CAAGTACTCCGAGAAGTTCAAGGGCCGCGCCACCCTGACCGCCGACACCTCCACCTCCA
CCGCCTACATGGAGCTGCGCTCCCTGCGCTCCGACGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCC
CGCGACGGCTGCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGTCTC
A

SEQ ID NO.21: Hu1H7VHv2 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDGCGYGFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO.22: Hu1H7VHv3 (trình tự nucleotit)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGA
 AGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTACATCCACTGGGTGCGC
 CAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCTACCCCGGCTCCGGCAACAC
 CAAGTACTCCGAGAAGTTCAAGGGCCGCGCCACCATGACCGCCGACACCTCCACCTCCA
 CCGCCTACATGGAGCTGCGCTCCCTGCGCTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 CGCGACGGCTGCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCTC
 A

SEQ ID NO.23: Hu1H7VHv3 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGCGYGFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO.24: Hu1H7VHv4 (trình tự nucleotit)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGA
 AGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCTCCTACTACATCCACTGGGTGCGC
 CAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTGGATCTACCCCGGCTCCGGCAACAC
 CAAGTACTCCGAGAAGTTCAAGGGCCGCGCCACCCCTGACCGCCGACACCTCCACCTCCA
 CCGCCTACATGGAGCTGCGCTCCCTGCGCTCCGACGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCC
 CGCGACGGCTCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCTC
 A

SEQ ID NO.25: Hu1H7VHv4 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT SYIIHWVRQAPGQGLEWIG WIYPGS
GNTKYSEKFKGRATLTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARD DGSYGFAYWGQGLVT
 VSS

SEQ ID NO.26: Hu1H7VHv5 (trình tự nucleotit)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGA
 AGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTACATCCACTGGGTGCGC
 CAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCTACCCCGGCTCCGGCAACAC
 CAAGTACTCCGAGAAGTTCAAGGGCCGCGCCACCATGACCGCCGACACCTCCACCTCCA
 CCGCCTACATGGAGCTGCGCTCCCTGCGCTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 CGCGACGGCTcCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTC
 A

SEQ ID NO.27: Hu1H7VHv5 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYIIHWVRQAPGQGLEWMG WIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD DGSYGFAYWGQGLVT
 VSS

SEQ ID NO.28: Hu1H7VH peptit tín hiệu (trình tự nucleotit)

ATGGAGTTCGGCCTGTCCTGGCTGTTCTTGGTGGCCATCCTGAAGGGCGTGCACT
 GC

SEQ ID NO.29: Hu1H7VH peptit tín hiệu (trình tự axit amin)

MEFGLSWLFLVAILKGVQC

SEQ ID NO.30: Hu1H7VH peptit tín hiệu (trình tự nucleotit)

ATGGACTGGACCTGGAGCATCCTTTTCTTGGTGGCAGCAGCAACAGGTGCCCACT
 CC

SEQ ID NO.31: Hu1H7VH peptit tín hiệu (trình tự axit amin)

MDWTWSILFLVAAATGAHS

SEQ ID NO.32: Hu1H7VLv1 (trình tự nucleotit)

GACATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCG
 TGACCATCACCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC
 TGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGTTCCTGATCTGCGCCGCCTCCAACCT
 GGAGTCCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA
 CCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGGACGCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCAACGAG
 GACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO.33: Hu1H7VLv1 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAAA
SNLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDAATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.34: Hu1H7VLv2 (trình tự nucleotit)

GACATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCG
 TGACCATCACCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC
 TGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGTTCCTGATCTaCGCCGCCTCCAACCT
 GGAGTCCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA
 CCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGGACGCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCAACGAG
 GACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO.35: Hu1H7VLv2 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLIYAAA
SNLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDAATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.36: Hu1H7VLv3 (trình tự nucleotit)

GACATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCG
 TGACCATCACCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC
 TGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGTTCCTGATCTGCGCCGCCTCCAACCT
 GGAGTCCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA

CCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCAACGAG
GACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO.37: Hu1H7VLv3 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAA
SNLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.38: Hu1H7VLv4 (trình tự nucleotit)

GACATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCG
TGACCATCACCTGCAAGGCCTCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC
TGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGTTCCTGATCTaCGCCGCCTCCAACCT
GGAGTCCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA
CCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGGACTtCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCAACGAG
GACCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO.39: Hu1H7VLv4 (trình tự axit amin, các CDR được in đậm và được gạch chân)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLIYAA
SNLESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.40: Hu1H7VL peptit tín hiệu (trình tự nucleotit)

ATGGACATGCGCGTGCCCGCCCAGCTGCTGGGCCTGCTGATGCTGTGGGTGTCCG
GCTCCTCCGGC

SEQ ID NO.41: Hu1H7VL peptit tín hiệu (trình tự axit amin)

MDMRVPAQLLGLLMLWVSGSSG

SEQ ID NO.42: BAC02037 (GI-21670055) Thẻ nhận của người được sử dụng cho trình tự axit amin khung chuỗi nặng

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSFGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYN
GDTNYAQNLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDRGSMSEDYWGQGTLLV
VSS

SEQ ID NO.43: AAY33358 GI-63102905) thể nhận của người sử dụng cho trình
tự axit amin vùng khung chuỗi nhẹ

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPPTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.44: Hu1H7VH không chứa đột biến ngược hoặc đột biến CDR

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGCYGFAYWGQGTLLV
VSS

SEQ ID NO.45: Hu1H7VL không chứa đột biến ngược hoặc đột biến CDR

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSDYDGD SYMNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO.46: Biến đổi Hu1H7VH

QVQLVQSGAE-X₁-KKPGASVKVSCKASGY-X₂-FTSYIHWV-X₃-
QAPGQGLEW-X₄-GWIYPGSGNTKYSEKFKGR-X₅-T-X₆-T-X₇-
DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY-X₈-CARDG-X₉-YGFAYWGQGTLLVTVSS

trong đó -X₁- là V hoặc L; -X₂- là S hoặc T; -X₃- là R hoặc K; -X₄- là M hoặc I; -
X₅- là V hoặc A; -X₆- là M hoặc L; -X₇- là T hoặc A; -X₈- là Y hoặc F; -X₉- là C hoặc S.

SEQ ID NO.47: biến đổi Hu1H7VL

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSDYDGD SYMNWYQQKPGKAPK-Z₁-
LI-Z₂-AASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED-Z₃-
ATYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIK

trong đó -Z₁- là L hoặc F; -Z₂- là Y hoặc C; -Z₃- là F hoặc A.

SEQ ID NO.48: biến đổi Hu1H7VH CDR3

DG-X₉-YGFAY

trong đó -X₉- là C hoặc M hoặc S hoặc T, tốt hơn là C

SEQ ID NO.49: vùng hằng định chuỗi nhẹ của 1H7 được làm giống như của người (có R) (thông thường đối với v1-v4)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.50: vùng hằng định chuỗi nặng của 1H7 được làm giống như của người (thông thường đối với v1-v5) IgG1

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCTPPCPA
PELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNVKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.51: vùng hằng định chuỗi nhẹ của 1H7 được làm giống như của người (không có R) (thông thường đối với v1-v4)

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.52: vùng hằng định chuỗi nặng của 1H7 được làm giống như của người (alotyp G1m3)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCTPPCPA
PELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.53: chuỗi nhẹ phiên bản 3 của 1H7 được làm giống như của người (vùng biến đổi + vùng hằng định chứa arginin)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.54: chuỗi nhẹ phiên bản 3 của 1H7 được làm giống như của người (vùng biến đổi + vùng hằng định không chứa arginin)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKFLICAA
SNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGQGTKLEIKTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.55: chuỗi nặng phiên bản 3 của 1H7 được làm giống như của người (vùng biến đổi + vùng hằng định)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGCYGFAYWGQGLT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNVKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPDSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVDFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.56: chuỗi nặng phiên bản 3 của 1H7 được làm giống như của người (vùng biến đổi + vùng hằng định G1m3 alotyp)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGS
GNTKYSEKFKGRATMTADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGCYGFAYWGQGLT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.57: vùng hằng định chuỗi nặng của 1H7 được làm giống như của người (IgG2)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.58: vùng hằng định chuỗi nặng của 1H7 được làm giống như của người (alotyp G1m1)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED
 <120> KHÁNG THỂ GẮN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI ALPHA-SYNUCLEIN CỦA NGƯỜI, ĐƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY, VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT KHÁNG THỂ NÀY
 <130> 057450/429375
 <140> PCT/US2013/023307
 <141> 2013-01-25
 <150> 61/591,835
 <151> 2012-01-27
 <150> 61/711,207
 <151> 2012-10-08
 <160> 58
 <170> FastSEQ hoặc Windows Version 4.0
 <210> 1
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Met Asp Val Phe Met Lys Gly Leu Ser Lys Ala Lys Glu Gly Val Val
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Glu Lys Thr Lys Gln Gly Val Ala Glu Ala Ala Gly Lys
 20 25 30
 Thr Lys Glu Gly Val Leu Tyr Val Gly Ser Lys Thr Lys Glu Gly Val
 35 40 45
 Val His Gly Val Ala Thr Val Ala Glu Lys Thr Lys Glu Gln Val Thr
 50 55 60
 Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala Val Ala Gln Lys
 65 70 75 80
 Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Thr Gly Phe Val Lys
 85 90 95
 Lys Asp Gln Leu Gly Lys Asn Glu Glu Gly Ala Pro Gln Glu Gly Ile
 100 105 110
 Leu Glu Asp Met Pro Val Asp Pro Asp Asn Glu Ala Tyr Glu Met Pro
 115 120 125
 Ser Glu Glu Gly Tyr Gln Asp Tyr Glu Pro Glu Ala
 130 135 140
 <210> 2
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Glu Gln Val Thr Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr Ala
 1 5 10 15
 Val Ala Gln Lys Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser Ile Ala Ala Ala Thr
 20 25 30
 Gly Phe Val
 35
 <210> 3
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Lys Glu Gln Val Thr Asn Val Gly Gly Ala Val Val Thr Gly Val Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Ala Gln Lys Thr Val Glu Gly Ala Gly Ser
 20 25
 <210> 4
 <211> 405
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 4
 atgggatgga gctgggtctt tatcttcctc ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccattgccag 60
 gtccagctgc agcagtctgg acctgagctg gtgaagcctg ggacttcagt gaagatatcc 120
 tgcaaggctt ctggctacag cttcacaagc tactatatac actgggtgaa gcagagtcct 180
 ggacagggac ttgagtggat tggatggatt tatcctggaa gtggtataac taagtacagt 240
 gagaagttca agggcaaggc cacactgact gcagacacat cctccagcac agcctacatg 300
 cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag agatgggtgc 360
 tacgggtttg cttactgggg ccaagggact ctggtcactg tctct 405
 <210> 5
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 5
Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
1 5 10 15
Val His Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
20 25 30
Pro Gly Thr Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45
Thr Ser Tyr Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser
65 70 75 80
Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser
85 90 95
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110
Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
130 135

<210> 6
<211> 393
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp

<400> 6
atggagacag acacactcct gttatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt 60
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 120
atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttatat gaactgggtac 180
caacagaaac caggacagcc acccaaattc ctcatctgtg ctgcatccaa tctagaatct 240
gggatcccgag ccaggttttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 300
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccattc 360
acgttcgggt cggggacaaa gttgaaata aaa 393

<210> 7
<211> 131
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp

<400> 7
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
20 25 30
Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60
Gly Gln Pro Pro Lys Phe Leu Ile Cys Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
65 70 75 80
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95
Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
115 120 125
Glu Ile Lys
130

<210> 8
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp

<400> 8
gtccagctgc agcagctctgg acctgagctg gtgaagcctg ggacttcagt gaagatatcc 60
tgcaaggctt ctggctacag ctcacaagc tactatatat actgggtgaa gcagagtcct 120
ggacagggac ttgagtggat tggatggatt tatcctggaa gtggtaatac taagtacagt 180
gagaagttca agggcaaggc cacactgact gcagacacat cctccagcac agcctacatg 240
cagctcagca gctgacatc tgaggactct gcagctctatt tctgtgcaag agatggttgc 300
tacgggtttg cttactgggg ccaagggact ctggtcactg tctct 345

<210> 9
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp

<400> 9
Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr Ser

```

1           5           10           15
Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Tyr
20           25           30
Ile His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35           40           45
Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
50           55           60
Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Thr Ala Tyr Met
65           70           75           80
Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
85           90           95
Arg Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100          105          110
Thr Val Ser
115
<210> 10
<211> 333
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 10
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60
atctctctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttatat gaactgggtac 120
caacagaaac caggacagcc acccaaattc ctcatctgtg ctgcatccaa tctagaatct 180
gggatcccgag ccaggttttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccattc 300
acgttcggct cggggacaaa gttggaaata aaa 333
<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 11
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1           5           10           15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20           25           30
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35           40           45
Lys Phe Leu Ile Cys Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50           55           60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65           70           75           80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85           90           95
Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100          105          110
<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 12
Ser Tyr Tyr Ile His
1           5
<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 13
Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1           5           10           15
Gly
<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 14
Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr
1           5
<210> 15
<211> 15
<212> PRT

```

<213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 15
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15
 <210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 16
 Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 17
 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 18
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 18
 caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag ctgaagaagc ccggcgccctc cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg cctccggcta ctcttcacc tcctactaca tccactgggt gaagcaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatcggtgg atctaccccg gctccggcaa caccaagtac 180
 tccgagaagt tcaagggccg cgccaccctg accgcccaca cctccacctc caccgcctac 240
 atggagctgc gtcacctgcg ctccgacgac accgcccgtgt acttctgcgc ccgcgacggc 300
 tgctacggct tcgcctactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc a 351
 <210> 19
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 19
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu 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
 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala 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 Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 20
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 20
 caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccctc cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg cctccggcta ctcttcacc tcctactaca tccactgggt gcgcccaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatcggtgg atctaccccg gctccggcaa caccaagtac 180
 tccgagaagt tcaagggccg cgccaccctg accgcccaca cctccacctc caccgcctac 240
 atggagctgc gtcacctgcg ctccgacgac accgcccgtgt acttctgcgc ccgcgacggc 300
 tgctacggct tcgcctactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc a 351
 <210> 21
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 21

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
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala 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 Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 22
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 22

caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc cggcgccctc cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg cctccgggta caccttcacc tcctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg atctaccccg gctccggcaa caccaagtac 180
 tccgagaagt tcaagggccg cgccaccatg accgcccaga cctccaccto caccgcctac 240
 atggagctgc gctccctgcg ctccgacgac accgcccgtg actactgcgc ccgcgacggc 300
 tgctacggct tcgcctactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc a 351

<210> 23
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 23

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

<210> 24
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 24

caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc cggcgccctc cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg cctccgggta ctccttcacc tcctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatcggtg atctaccccg gctccggcaa caccaagtac 180
 tccgagaagt tcaagggccg cgccaccctg accgcccaga cctccaccto caccgcctac 240
 atggagctgc gctccctgcg ctccgacgac accgcccgtg acttctgcgc ccgcgacggc 300
 tcctacggct tcgcctactg gggccagggc accctggtga ccgtgtcctc a 351

<210> 25
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 25

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

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala 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 Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Ser Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 26
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 26
 cagggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccctc cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg cctccggcta caccttcacc tcctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
 cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg atctaccccg gctccggcaa caccaagtac 180
 tccgagaagt tcaaggggcg cgccaccatg accgcccaga cctccacctc caccgcctac 240
 atggagctgc gctccctgcg ctccgacgac accgccgtgt actactgcgc ccgcgacggc 300
 tcctacgggt tcgcctactg gggccagggc accctggtga ccgtgtctc a 351
 <210> 27
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 27
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser 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 Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Met Thr Ala 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 Asp Gly Ser Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 28
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 28
 atggagttcg gcctgtcctg gctgttcctg gtggccatcc tgaagggcgt gcagtgc 57
 <210> 29
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 29
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys
 <210> 30
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 30
 atggactgga cctggagcat ccttttcttg gtggcagcag caacaggtgc ccactcc 57
 <210> 31
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 31
 Met Asp Trp Thr Trp Ser Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser

<210> 32
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 32
 gacatccagc tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgcgtgacc 60
 atcacctgca aggcctccca gtcctgggac tacgacggcg actcctacat gaactggtac 120
 cagcagaagc ccggcaaggc cccaagttc ctgatctgcy ccgcctccaa cctggagtcc 180
 ggcgtgccct cccgcttctc cggctccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240
 tccctgcagc ccgaggacgc cgccacctac tactgccagc agtccaacga ggacccttc 300
 accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aag 333

<210> 33
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 33
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Phe Leu Ile Cys Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 34
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 34
 gacatccagc tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgcgtgacc 60
 atcacctgca aggcctccca gtcctgggac tacgacggcg actcctacat gaactggtac 120
 cagcagaagc ccggcaaggc cccaagttc ctgatctacg ccgcctccaa cctggagtcc 180
 ggcgtgccct cccgcttctc cggctccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240
 tccctgcagc ccgaggacgc cgccacctac tactgccagc agtccaacga ggacccttc 300
 accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aag 333

<210> 35
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 35
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 36
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp

<400> 36
 gacatccagc tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgcgtgacc 60
 atcacctgca aggcctccca gtcctgggac tacgacggcg actcctacat gaactggtac 120
 cagcagaagc ccggcaaggc cccaagttc ctgatctgcy ccgcctccaa cctggagtcc 180
 ggcgtgccct cccgcttctc cggctccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240
 tccctgcagc ccgaggactt cgccacctac tactgccagc agtccaacga ggacccttc 300

accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aag 333
 <210> 37
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 37
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Phe Leu Ile Cys Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 38
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 38
 gacatccagc tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtggggcga ccgcgtagacc 60
 atcacctgca aggcctccca gtccgtggac tacgacggcg actcctacat gaactggtag 120
 cagcagaagc ccggcaaggc cccaagttc ctgatctacg ccgcctccaa cctggagtag 180
 ggcgtagcct cccgcttctc cggtccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240
 tccctgcagc ccgaggactt cgccacctac tactgccagc agtccaacga ggacccttc 300
 accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aag 333
 <210> 39
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 39
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Phe Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 40
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 40
 atggacatgc gcgtgcccgc ccagctgctg ggccctgctga tgctgtgggt gtccggctcc 60
 tccggc 66
 <210> 41
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 41
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp
 1 5 10 15
 Val Ser Gly Ser Ser Gly
 20
 <210> 42
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 42

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 Phe
 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 Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Asn 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 Asp Arg Gly Ser Met Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 43

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly 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 Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 44

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 44

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

<210> 45

<211> 111

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 45

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

Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn	
				85					90				95		
Glu	Asp	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
			100					105					110		
<210> 46															
<211> 117															
<212> PRT															
<213> Trình tự nhân tạo															
<220>															
<223> Trình tự tổng hợp															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 11															
<223> Xaa là Val hoặc Leu															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 28															
<223> Xaa là Ser hoặc Thr															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 38															
<223> Xaa là Arg hoặc Lys															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 48															
<223> Xaa là Met hoặc Ile															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 68															
<223> Xaa là Val hoặc Ala															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 70															
<223> Xaa là Met hoặc Leu															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 72															
<223> Xaa là Thr hoặc Ala															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 95															
<223> Xaa là Tyr hoặc Phe															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 101															
<223> Xaa là Cys hoặc Ser															
<400> 46															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Xaa	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Xaa	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Xaa	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Xaa
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Lys	Tyr	Ser	Glu	Lys	Phe
		50				55					60				
Lys	Gly	Arg	Xaa	Thr	Xaa	Thr	Xaa	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	Xaa	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asp	Gly	Xaa	Tyr	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser											
				115											
<210> 47															
<211> 111															
<212> PRT															
<213> Trình tự nhân tạo															
<220>															
<223> Trình tự tổng hợp															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 50															
<223> Xaa là Leu hoặc Phe															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 53															
<223> Xaa là Tyr hoặc Cys															
<220>															
<221> Trình tự biến thể															
<222> 87															

<223> Xaa là Phe hoặc Ala

<400> 47

```

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

```

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<220>

<221> Trình tự biến thể

<222> 3

<223> Xaa là Cys hoặc Met hoặc Ser hoặc Thr

<400> 48

```

Asp Gly Xaa Tyr Gly Phe Ala Tyr
 1           5

```

<210> 49

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 49

```

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

```

<210> 50

<211> 330

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 50

```

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

```

```

180      185      190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195      200      205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210      215      220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225      230      235      240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245      250      255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260      265      270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275      280      285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290      295      300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305      310      315      320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325      330

```

<210> 51
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 51

```

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> 52
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <400> 52

```

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

```

							260								265								270
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe								
							275								280								285
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn								
							290								295								300
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr								
							305								310								315
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys														
							325								330								

```
<210> 53
<211> 218
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 53
```

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

```
<210> 54
<211> 217
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 54
```

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

<210> 55

<211> 447
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <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 Thr Phe Thr Ser 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 Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Met Thr Ala 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 Asp Gly Cys Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Val Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 56
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự tổng hợp
 <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 Thr Phe Thr Ser 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 Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Met Thr Ala 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	Asp	Gly	Cys	Tyr	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
			100					105					110			
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
			115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
145					150					155					160	
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
					165				170					175		
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
					180				185					190		
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
							200					205				
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
							215					220				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
225					230					235					240	
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
					245				250					255		
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
					260			265					270			
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
							280					285				
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
							295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
305					310					315					320	
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
					325				330					335		
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
					340			345					350			
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
							360					365				
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
							375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
385					390					395					400	
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
					405				410					415		
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
					420			425					430			
His	Asn</															

```
<210> 57
<211> 326
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Trình tự tổng hợp
<400> 57
```

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> 58

<211> 330

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tổng hợp

<400> 58

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.23, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33 hoặc SEQ ID NO.37, trong đó kháng thể này gắn kết đặc hiệu với alpha-synuclein của người.
2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.37.
3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.33.
4. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ hoàn chỉnh được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ.
5. Kháng thể theo điểm 4, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.52 với điều kiện là gốc lysin ở đầu tận cùng C có thể được loại bỏ.
6. Kháng thể theo điểm 4, trong đó vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như nêu trong SEQ ID NO.49.
7. Kháng thể theo điểm 4 hoặc 6, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng là vùng hằng định chuỗi nặng của isotyp IgG1 của người.
8. Axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng hoàn chỉnh và vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoàn chỉnh được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên.
9. Axit nucleic theo điểm 8, trong đó axit nucleic này có trình tự bất kỳ như nêu trong các trình tự SEQ ID NO.22, SEQ ID NO.32 hoặc SEQ ID NO.36.
10. Tế bào vật chủ chứa vectơ chứa axit nucleic theo điểm 8 hoặc 9.
11. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.
12. Phương pháp sản xuất kháng thể, bao gồm bước nuôi cấy tế bào được biến nạp với axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể này, sao cho tế bào này bài

tiết kháng thể; và tinh chế kháng thể từ môi trường nuôi cấy tế bào, trong đó kháng thể này là kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.

13. Phương pháp sản xuất dòng tế bào sản sinh kháng thể, bao gồm bước chuyển vector mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể và chất đánh dấu chọn lọc vào tế bào; nuôi cấy tăng sinh tế bào thu được trong các điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao của vector này được gia tăng; phân lập tế bào đơn lẻ ra khỏi tế bào đã được chọn lọc; và lập ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ đã được chọn lọc trên cơ sở hiệu suất của kháng thể; trong đó kháng thể này là kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.

14. Phương pháp theo điểm 13, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước nuôi cấy tăng sinh tế bào thu được trong các điều kiện chọn lọc và sàng lọc dòng tế bào biểu hiện tự nhiên và bài tiết kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 ít nhất ở hàm lượng bằng $100\text{mg/L}/10^6$ tế bào/24 giờ.

Sắp thẳng hàng 1H7VH

Hệ thống đánh số thứ tự Kabat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
m1H7VH	Q	Q	Q	L	Q	Q	S	G	P	E	L	V	K	P	G	T	S	V	K	I
BAC02037	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V
Hu1H7VHV1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V
Hu1H7VHV2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V
Hu1H7VHV3	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V
Hu1H7VHV4	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V
Hu1H7VHV5	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	V	K	V

Hệ thống đánh số thứ tự Kabat	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
m1H7VH	S	C	K	A	S	G	Y	S	F	T	S	Y	Y	I	H	W	V	K	Q	S
BAC02037	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	F	G	I	S	W	V	R	Q	A
Hu1H7VHV1	S	C	K	A	S	G	Y	S	F	T	S	Y	Y	I	S	W	V	K	Q	A
Hu1H7VHV2	S	C	K	A	S	G	Y	S	F	T	S	Y	Y	I	S	W	V	K	Q	A
Hu1H7VHV3	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	S	W	V	R	Q	A
Hu1H7VHV4	S	C	K	A	S	G	Y	S	F	T	S	Y	Y	I	S	W	V	R	Q	A
Hu1H7VHV5	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	Y	I	S	W	V	R	Q	A

Hệ thống đánh số thứ tự Kabat	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59
m1H7VH	P	G	Q	G	L	E	W	I	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y
BAC02037	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	S	P	Y	N	G	D	T	N	Y
Hu1H7VHV1	P	G	Q	G	L	E	W	I	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y
Hu1H7VHV2	P	G	Q	G	L	E	W	I	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y
Hu1H7VHV3	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y
Hu1H7VHV4	P	G	Q	G	L	E	W	I	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y
Hu1H7VHV5	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	Y	P	G	S	G	N	T	K	Y

Fig. 1A

Sắp thẳng hàng 1H7VH

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VH
BAC02037
Hu1H7VHV1
Hu1H7VHV2
Hu1H7VHV3
Hu1H7VHV4
Hu1H7VHV5

60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
S	E	K	F	K	G	K	A	T	L	T	A	D	T	S	S	S	T	A	Y
A	Q	N	L	Q	G	R	V	T	M	T	T	D	T	S	T	S	T	A	Y
S	E	K	F	K	G	R	A	T	L	T	A	D	T	S	T	S	T	A	Y
S	E	K	F	K	G	R	A	T	M	T	A	D	T	S	T	S	T	A	Y
S	E	K	F	K	G	R	A	T	L	T	A	D	T	S	T	S	T	A	Y
S	E	K	F	K	G	R	A	T	M	T	A	D	T	S	T	S	T	A	Y

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VH
BAC02037
Hu1H7VHV1
Hu1H7VHV2
Hu1H7VHV3
Hu1H7VHV4
Hu1H7VHV5

80	81	82	82A	82B	82C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
M	Q	L	S	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	F	C	A	R	D	G
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	D	R
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	D	R
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	D	G
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	D	G
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	D	G
M	E	L	R	S	L	R	S	D	D	T	A	V	Y	F	C	A	R	D	G

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VH
BAC02037
Hu1H7VHV1
Hu1H7VHV2
Hu1H7VHV3
Hu1H7VHV4
Hu1H7VHV5

97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
C	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	-
G	S	M	S	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S
C	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S
C	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S
C	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S
S	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S
S	Y	G	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S

Fig.1B

Sắp thẳng hàng 1H7VL

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

1	D	2	I	3	V	4	L	5	T	6	Q	7	S	8	P	9	A	10	S	11	L	12	A	13	V	14	S	15	L	16	G	17	Q	18	R	19	A	20	T
D	I	I	I	I	I	I	I	T	T	Q	Q	S	S	P	P	A	S	S	S	L	S	S	A	S	S	S	S	S	L	G	D	R	V	V	V	V	V	T	
D	I	Q	Q	Q	Q	Q	Q	T	T	Q	Q	S	S	P	P	A	S	S	S	L	S	S	A	S	S	S	S	S	L	G	D	R	V	V	V	V	V	T	
D	I	Q	Q	Q	Q	Q	Q	T	T	Q	Q	S	S	P	P	A	S	S	S	L	S	S	A	S	S	S	S	S	L	G	D	R	V	V	V	V	V	T	
D	I	Q	Q	Q	Q	Q	Q	T	T	Q	Q	S	S	P	P	A	S	S	S	L	S	S	A	S	S	S	S	S	L	G	D	R	V	V	V	V	V	T	
D	I	Q	Q	Q	Q	Q	Q	T	T	Q	Q	S	S	P	P	A	S	S	S	L	S	S	A	S	S	S	S	S	L	G	D	R	V	V	V	V	V	T	

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

21	I	22	S	23	C	24	K	25	A	26	S	27	Q	27A	S	27B	V	27C	D	27D	Y	28	D	29	G	30	D	31	S	32	Y	33	M	34	N	35	W	36	Y
I	T	C	R	A	S	S	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
I	T	C	K	A	S	S	Q	S	V	D	Y	D	Y	S	V	V	V	D	D	Y	Y	D	G	I	R	D	S	S	Y	D	L	G	Y	W	W	W	W	W	Y
I	T	C	K	A	S	S	Q	S	V	D	Y	D	Y	S	V	V	V	D	D	Y	Y	D	G	D	G	D	S	S	Y	D	L	G	Y	W	W	W	W	W	Y
I	T	C	K	A	S	S	Q	S	V	D	Y	D	Y	S	V	V	V	D	D	Y	Y	D	G	D	G	D	S	S	Y	D	L	G	Y	W	W	W	W	W	Y
I	T	C	K	A	S	S	Q	S	V	D	Y	D	Y	S	V	V	V	D	D	Y	Y	D	G	D	G	D	S	S	Y	D	L	G	Y	W	W	W	W	W	Y

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

37	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Fig.2A

Sắp thẳng hàng 1H7VL

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

57	G	58	I	59	P	60	A	61	R	62	F	63	S	64	G	65	S	66	G	67	S	68	G	69	T	70	D	71	F	72	T	73	L	74	N	75	I	76	H
G	V	V	V	P	P	S	S	R	R	F	F	S	G	G	G	S	S	G	G	S	S	G	T	T	D	D	F	T	T	L	L	T	T	I	I	I	S		
G	V	V	V	P	P	S	S	R	R	F	F	S	G	G	G	S	S	G	G	S	S	G	T	T	D	D	F	T	T	L	L	T	T	I	I	I	S		
G	V	V	V	P	P	S	S	R	R	F	F	S	G	G	G	S	S	G	G	S	S	G	T	T	D	D	F	T	T	L	L	T	T	I	I	I	S		
G	V	V	V	P	P	S	S	R	R	F	F	S	G	G	G	S	S	G	G	S	S	G	T	T	D	D	F	T	T	L	L	T	T	I	I	I	S		
G	V	V	V	P	P	S	S	R	R	F	F	S	G	G	G	S	S	G	G	S	S	G	T	T	D	D	F	T	T	L	L	T	T	I	I	I	S		

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

77	P	V	E	E	E	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
78	L	L	Q	P	P	D	A	T	Y	C	L	Q	D	Y	N	E	Y	P	P
79	Q	Q	Q	P	P	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
80	P	P	P	P	P	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
81	E	E	E	E	E	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
82	D	D	D	D	D	D	F	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
83	F	F	F	F	F	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
84	A	A	A	A	A	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
85	T	T	T	T	T	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
86	Y	Y	Y	Y	Y	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
87	Y	Y	Y	Y	Y	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
88	C	C	C	C	C	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
89	Q	L	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
90	Q	Q	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
91	S	D	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
92	N	Y	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
93	E	N	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
94	D	Y	Q	Q	Q	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
95	P	P	Q	P	P	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F
96	F	P	Q	P	P	D	A	T	Y	C	Q	Q	S	N	N	E	D	P	F

Hệ thống đánh
số thứ tự Kabat
m1H7VL
AAV33358
Hu1H7VLv1
Hu1H7VLv2
Hu1H7VLv3
Hu1H7VLv4

97	T	98	F	99	G	100	S	101	G	102	T	103	K	104	L	105	E	106	I	107	K
T	F	G	S	G	T	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I
T	F	G	Q	Q	T	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I
T	F	G	Q	Q	T	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I
T	F	G	Q	Q	T	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I
T	F	G	Q	Q	T	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I	K	L	E	I

Fig.2B

Kháng thể 1H7 của chuột nhắt

Đường cong: Fc=4-3 Phối tử: Mẫu 1H7 của chuột nhắt: Nhiệt độ: synuclein 25°C

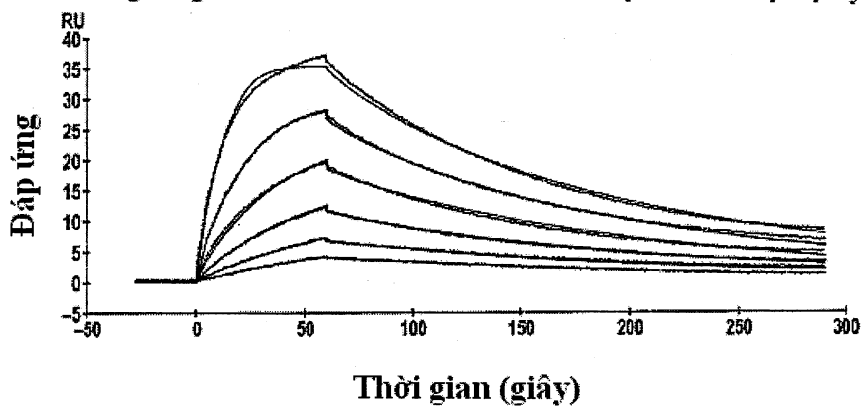


Fig.3A

Kháng thể 1H7 thể khâm

Đường cong: Fc=2-1 Phối tử: Mẫu 1H7 thể khâm: Nhiệt độ: synuclein 25°C

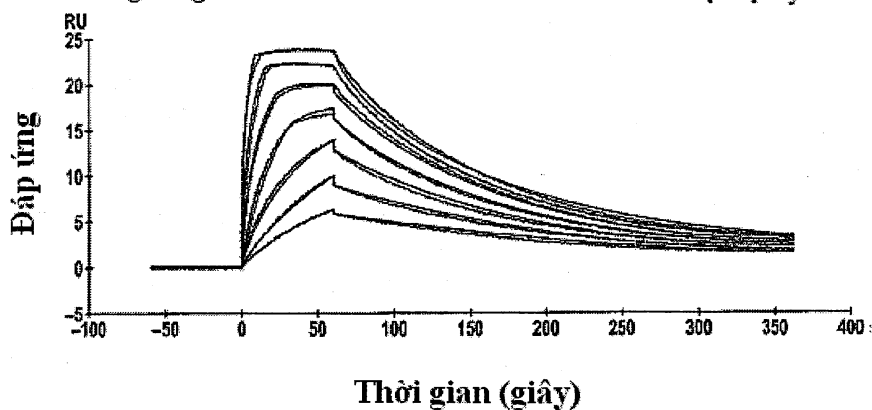


Fig.3B

Kháng thể 1H7 được làm giống như của người

Đường cong: Fc=2-1 Phối tử: Mẫu 1H7 h313: Nhiệt độ: synuclein 25°C

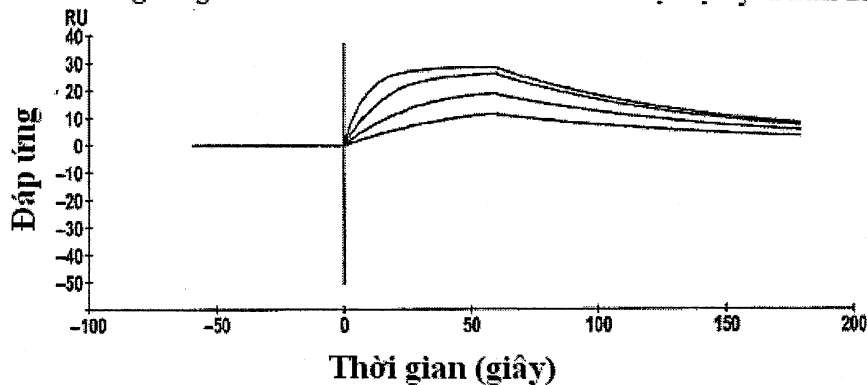


Fig.3C

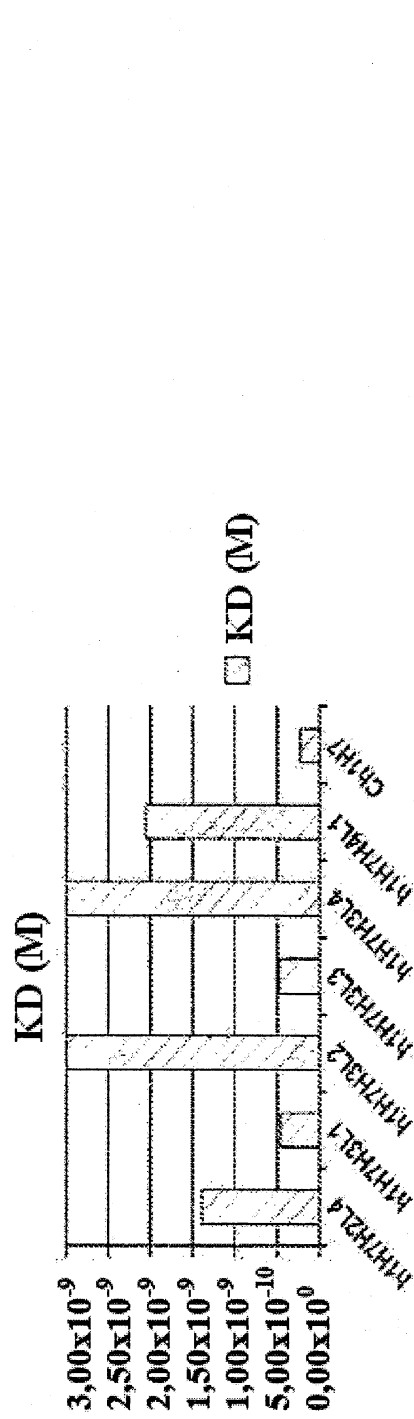


Fig. 4A

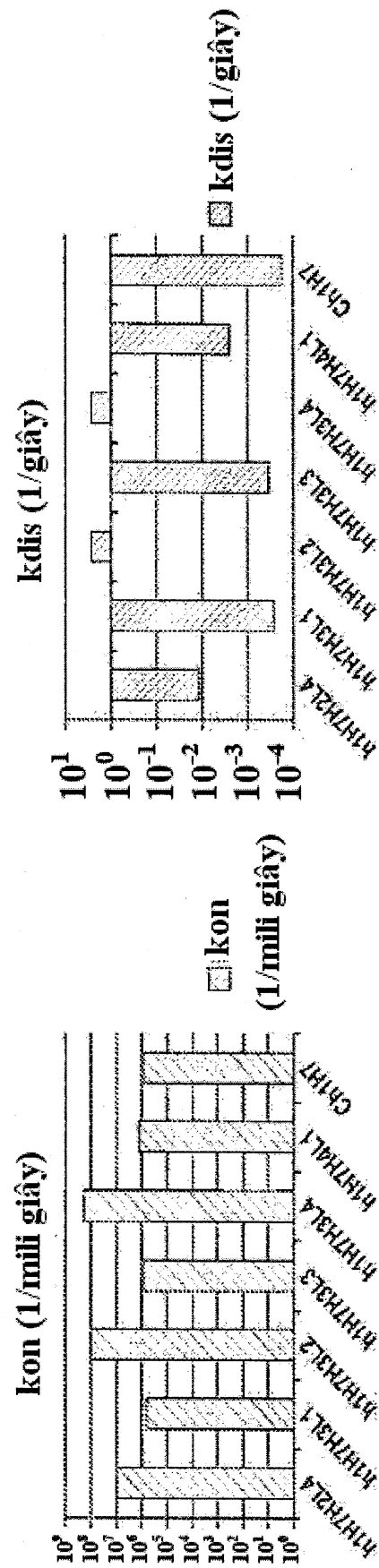


Fig. 4B

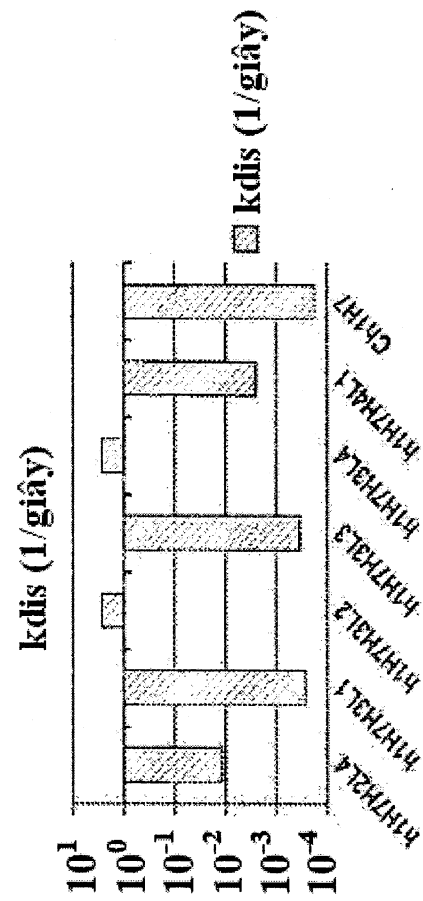


Fig. 4C

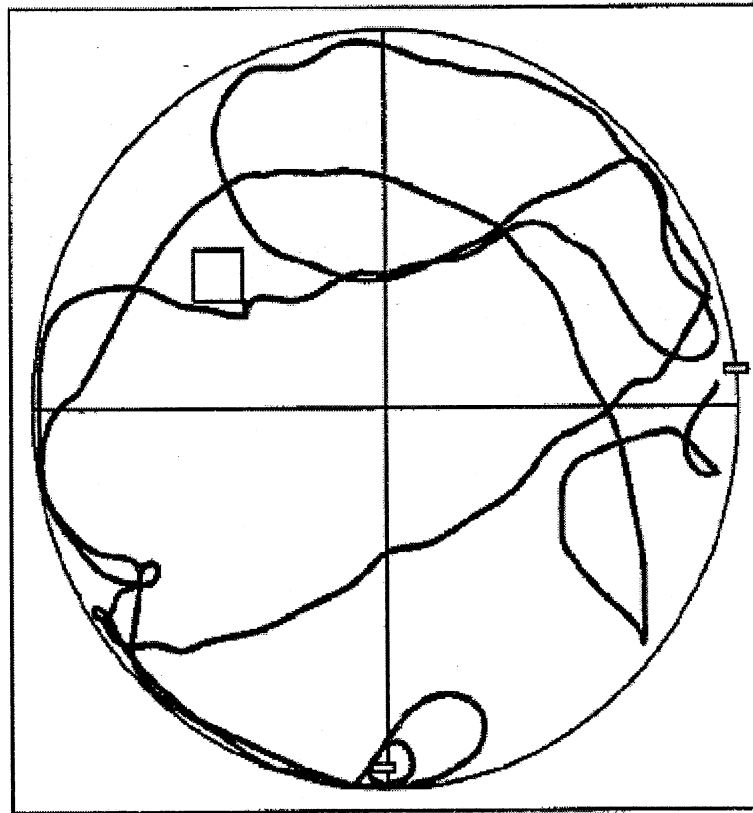
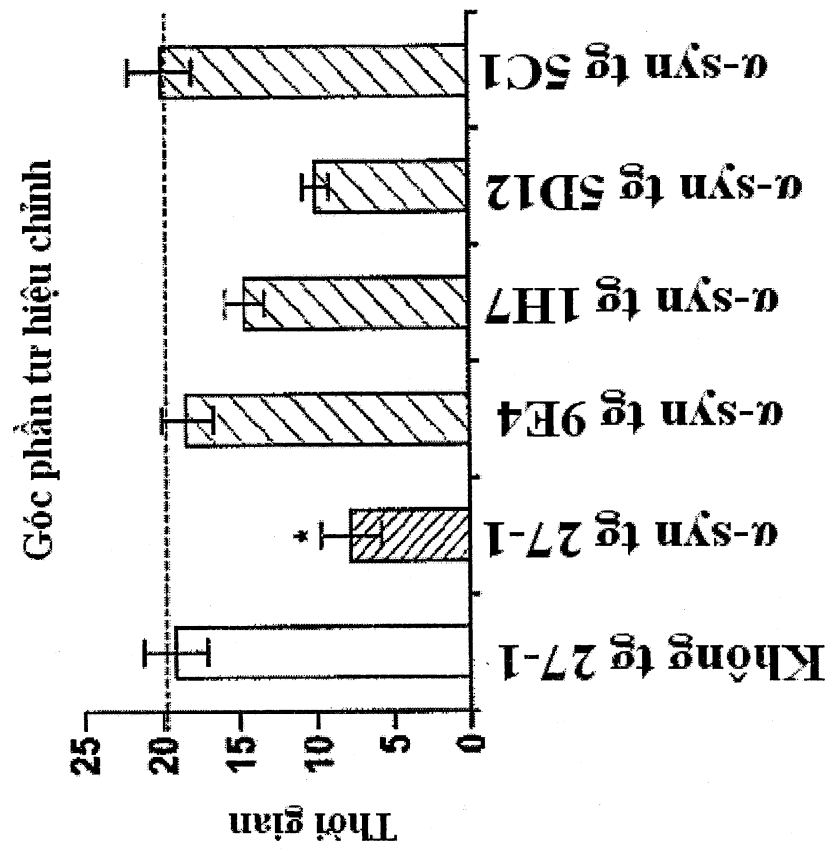


Fig.5

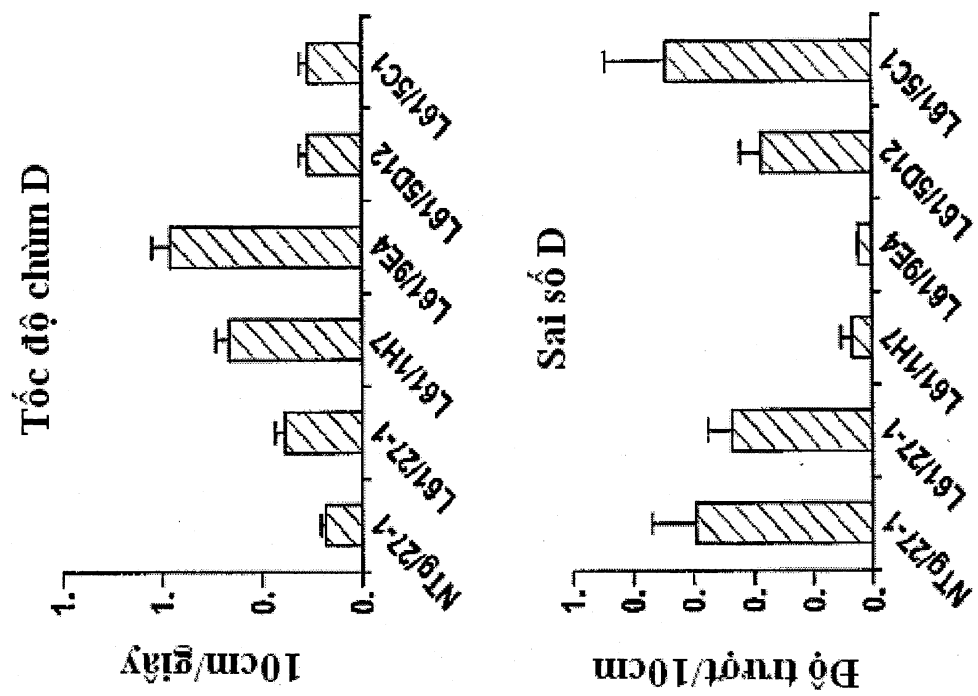


Fig.6

