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

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

(11) **1-0024709**

(51)[7] **C07K 14/55**; C12N 15/26; A61K 39/395; A61K 47/48

(13) **B**

(21) 1-2013-02810
(22) 07/02/2012
(86) PCT/EP2012/051991 07/02/2012
(87) WO2012/107417 16/08/2012
(30) 11153964.9 10/02/2011 EP; 11164237.7 29/04/2011 EP
(45) 27/07/2020 388
(43) 26/05/2014 314A
(73) ROCHE GLYCART AG (CH)
Wagistrasse 18 CH-8952 Schlieren (CH)
(72) AST, Oliver (DE); BRUENKER, Peter (DE); FREIMOSER-GRUNDSCHOBER, Anne (CH); HERTER, Sylvia (DE); HOFER, Thomas U. (CH); HOSSE, Ralf (DE); KLEIN, Christian (DE); MOESSNER, Ekkehard (DE); NICOLINI, Valeria G. (ES); UMANA, Pablo (CR).
(74) Công ty Cổ phần Hỗ trợ phát triển công nghệ Detech (DETECH)

(54) POLYPEPTIT INTERLEUKIN-2 ĐỘT BIẾN

(57) Sáng chế đề cập đến các polypeptit interleukin-2 (IL-2) đột biến biểu hiện ái lực giảm cho nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2, để sử dụng như các tác nhân điều trị miễn dịch. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến, các phân tử polynucleotit mã hóa các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch này, vectơ và các tế bào chủ chứa các phân tử polynucleotit này. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp để sản xuất các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch, các chế phẩm dược chứa các polypeptit này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các polypeptit interleukin-2 (IL-2) đột biến. Cụ thể hơn là, sáng chế liên quan tới các polypeptit interleukin-2 đột biến biểu hiện các đặc tính được cải thiện để sử dụng làm các tác nhân điều trị miễn dịch. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến này, các phân tử polynucleotit mã hóa các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch, và các vectơ và các tế bào chủ bao gồm các phân tử polynucleotit này. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp để sản xuất các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch, các chế phẩm dược chứa polypeptit này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Interleukin-2 (IL-2), cũng được biết đến như chất kích thích sinh trưởng tế bào T (TCGF), là glycoprotein có dạng hình cầu 15,5 kDa đóng vai trò quyết định đối với sự phát sinh limphô bào, sự tồn tại và tính nội cân bằng. Nó có độ dài 133 axit amin và gồm có bốn phần đối song song, các đường cuộn xoắn α-lưỡng ái tạo thành cấu trúc liên kết với bốn nguyên tử cacbon không thể thiếu được về chức năng của chúng (Smith, Science 240, 1169-76 (1988); Bazan, Science 257, 410-413 (1992)). Các trình tự IL-2 từ các dạng khác nhau đã được phát hiện theo NCBI RefSeq Nos. NP000577 (người), NP032392 (động vật gặm nhấm), NP446288 (chuột) hoặc NP517425 (tinh tinh).

IL-2 làm trung gian hoạt động của nó bằng cách gắn kết với thụ thể IL-2s (IL-2R), trong đó chứa lên đến ba tiểu đơn vị, sự kết hợp khác nhau của chúng có thể tạo ra các dạng thụ thể khác biệt về ái lực của chúng với IL-2. Sự kết hợp của các đơn vị con α (CD25), β (CD122), và γ (γ_c, CD132) dẫn tới ái lực thụ thể cao, trime cho IL-2. Thụ thể IL-2 dime bao gồm các đơn vị con β và γ được gọi là IL-2R ái lực trung gian. Đơn vị con α tạo thành thụ thể IL-2 ái lực thấp monome. Mặc dù thụ thể IL-2 ái lực trung gian dime gắn kết IL-2 với ái lực thấp

hơn xấp xỉ 100 lần thụ thể ái lực cao trime, cả hai biến thể thụ thể IL-2 dime và trime có khả năng truyền tín hiệu trên gắn kết IL-2 (Minami et al., Annu Rev Immunol 11, 245-268 (1993)). Do đó, nhóm nhỏ α, CD25, là không cần thiết cho việc truyền tín hiệu IL-2. Nó truyền gắn kết ái lực cao tới thụ thể của nó, trong khi đơn vị con β, CD122, và đơn vị con γ- là yếu tố quyết định cho sự truyền tính trạng tín hiệu (Krieg et al., Proc Natl Acad Sci 107, 11906-11 (2010)). Các thụ thể IL-2 trime bao gồm CD25 được biểu hiện bởi (không hoạt động tích cực) các tế bào $CD4^+$ forkhead box P3 $(FoxP3)^+$ điều tiết T (T_{reg}). Chúng cũng gây ra trên các tế bào T được hoạt hóa thông thường tạm thời, trong khi trong trạng thái không hoạt động tích cực các tế bào này chỉ biểu hiện các thụ thể IL-2 dime. Các tế bào T_{reg} biểu hiện phù hợp mức cao nhất của CD25 *in vivo* (Fontenot et al., Nature Immunol 6, 1142-51 (2005)).

IL-2 được tổng hợp chủ yếu bằng các tế bào T hoạt hóa, cụ thể là các tế bào T hỗ trợ CD4+. Nó kích thích sự tăng sinh và sự phân biệt của các tế bào T, gây ra sự phát sinh của các limphô bào T gây hại tế bào (CTL) và sự phân biệt của các limphô bào máu ngoại vi với các tế bào gây hại tế bào và các tế bào tiêu diệt hoạt tính chất kích hoạt bạch cầu (LAK), đẩy mạnh sự biểu hiện xytokin và thoái hóa tế bào phân tử bởi các tế bào T, tạo thuận lợi cho sự tăng sinh và sự phân biệt của các tế bào B- và sự tổng hợp của globulin miễn dịch bởi các tế bào B-, và kích thích sự phát sinh, sự tăng sinh và sự hoạt hóa của các tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK) (được xem xét, ví dụ trong Waldmann, Nat Rev Immunol 6, 595-601 (2009); Olejniczak and Kasprzak, Med Sci Monit 14, RA179-89 (2008); Malek, Annu Rev Immunol 26, 453-79 (2008)).

Khả năng của nó để mở rộng các quần thể limphô bào *in vivo* và tăng các chức năng phản ứng của các tế bào này tạo các hiệu quả kháng khối u cho IL-2, tiến hành điều trị miễn dịch IL-2 lựa chọn điều trị thu hút đối với các bệnh ung thư di căn nhất định. Do đó, việc điều trị liều IL-2 cao đã được chấp thuận để sử dụng ở các bệnh nhân có ung thư biểu mô và khối u ác tính tế bào thận di căn.

Tuy nhiên, IL-2 có chức năng kép về sự đáp ứng miễn dịch trong đó nó không chỉ làm trung gian mở rộng và hoạt hóa của các tế bào kích thích, mà còn là yếu tố tham gia quyết định vào việc duy trì sự chịu đựng miễn dịch ngoại vi.

Cơ chế chủ yếu của sự tự chịu đựng thuốc ngoại vi cơ bản là IL-2 gây ra sự hoạt hóa-gây ra chết tế bào (AICD) trong các tế bào T. AICD là quy trình bởi trong đó các tế bào T hoạt hóa hoàn toàn trải qua quá trình chết tế bào được lập trình thông qua trạng thái đã được kích hoạt của các thụ thể gây ra chết biểu hiện bề mặt tế bào như CD95 (cũng được biết đến như Fas) hoặc thụ thể TNF. Khi các tế bào T hoạt hóa kháng nguyên biểu hiện thụ thể IL-2 ái lực cao (sau khi tiếp xúc trước với IL-2) trong khi sự tăng sinh được kích thích lại với kháng nguyên nhờ thụ thể tế bào T (phức hợp TCR)/CD3, biểu hiện của phối tử Fas (FasL) và/hoặc nhân tố hoại tử khối u (TNF) được tạo ra, tạo thành các tế bào nhạy với sự tự sát của tế bào trung gian Fas. Quy trình này phụ thuộc IL-2 (Lenardo, Nature 353, 858-61 (1991)) và được trung gian nhờ STAT5. Bằng quy trình của AICD trong các limphô bào T sự chịu đựng được thuốc không chỉ có thể được xác định với các kháng nguyên cùng loại, mà còn với các kháng nguyên bền mà không phải là phần tách rõ ràng của cấu trúc tế bào chủ, như các kháng nguyên khối u.

Hơn nữa, IL-2 cũng có mặt trong sự duy trì của các tế bào $CD4^+$ $CD25^+$ điều tiết T ngoại vi (T_{reg}) (Fontenot et al., Nature Immunol 6, 1142-51 (2005); D'Cruz and Klein, Nature Immunol 6, 1152-59 (2005); Maloy and Powrie, Nature Immunol 6, 1171-72 (2005), cũng được biết đến như các tế bào T triệt. Chúng triệt các tế bào T phản ứng từ việc phá hủy (cùng-) đích của chúng, hoặc thông qua sự tiếp xúc tế bào-tế bào bằng cách ức chế sự trợ giúp và sự hoạt hóa tế bào T, hoặc thông qua sự giải phóng của các xytokin ức chế miễn dịch như IL-10 hoặc TGF-β. Sự làm suy yếu của các tế bào T_{reg} được thể hiện để đẩy mạnh IL-2 gây ra sự miễn dịch kháng khối u (Imai et al., Cancer Sci 98, 416-23 (2007)).

Do đó, IL-2 không phải là để ức chế tối ưu sự phát triển khối u, vì với sự có mặt của IL-2 hoặc CTLs được tạo ra có thể nhận biết khối u như cùng một loại và trải qua AICD hoặc sự đáp ứng miễn dịch có thể được ức chế bởi các tế bào T_{reg} phụ thuộc IL-2.

Liên quan tiếp trong mối quan hệ với IL-2 điều trị miễn dịch là các tác dụng phụ được tạo ra bởi việc điều trị sự tái tổ hợp IL-2 người. Các bệnh nhân tiếp nhận điều trị IL-2 liều cao thường xuyên trải qua các sự kiện bất lợi nghiêm trọng có liên quan đến tim mạch, phổi, thận, gan, dạ dày – ruột, thần kinh, da, máu và cơ thể nói chung, trong đó yêu cầu giám sát cao độ và quản lý bệnh nhân nội trú. Phần lớn các tác dụng phụ của chúng có thể được giải thích bằng sự phát triển của cái gọi là hội chứng thủng mạch (hoặc mao dẫn) (VLS), tăng bất hợp lý về khả năng thấm mạch dẫn tới sự thoát chất lỏng ở nhiều cơ quan (ví dụ, gây ra phù da và phổi và phá hủy tế bào gan) và sự làm giảm chất lỏng trong mạch (gây ra giảm áp suất máu và tăng nhanh huyết áp). Không có việc điều trị của VLS khác ngoài sự rút lui của IL-2. Các chế độ IL-2 liều thấp đã từng được thử nghiệm ở các bệnh nhân để ngăn ngừa VLS, tuy nhiên, không có lợi về các kết quả điều trị thay thế tối ưu. VLS được kỳ vọng là do sự giải phóng của các xytokin gây viêm, như nhân tố hoại tử khối u (TNF)-α từ NK các tế bào hoạt hóa IL-2, tuy nhiên gần đây nó đã được thể hiện rằng sự phù phổi gây ra IL-2 được tạo ra từ việc gắn kết trực tiếp của IL-2 với các tế bào màng trong phổi, trong đó được biểu hiện thấp với các mức trung gian của thụ thể IL-2s αβγ chức (Krieg et al., Proc Nat Acad Sci USA 107, 11906-11 (2010)).

Một vài phương pháp đã được thực hiện để khắc phục các vấn đề này được kết hợp với điều trị miễn dịch IL-2. Ví dụ, đã phát hiện ra rằng sự kết hợp của IL-2 với các kháng thể đơn dòng kháng-IL-2 nhất định nâng cao các hiệu quả điều trị hiệu quả của IL-2 *in vivo* (Kamimura et al., J Immunol 177, 306-14 (2006); Boyman et al., Science 311, 1924-27 (2006)). Trong một nghiên cứu khác, IL-2 đã từng được biến đổi theo cách cách khác nhau để làm giảm độc tính của chúng và/hoặc tăng hiệu quả của chúng. Hu et al. (Blood 101, 4853-4861 (2003), US Pat. Publ. No. 2003/0124678) đã từng thay thế gốc arginin ở vị trí 38

của IL-2 bằng tryptophan để loại bỏ sự hoạt hóa khả năng thấm mạch của IL-2. Shanafelt et al. (Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000)) đã biến đổi asparagin 88 thành arginin để đẩy mạnh tính chọn lọc cho các tế bào T hơn các tế bào NK. Heaton et al. (Cancer Res 53, 2597-602 (1993); US Pat. No. 5,229,109) đã từng đưa ra hai sự biến đổi, Arg38Ala và Phe42Lys, để làm giảm sự bài tiết của các xytokin gây viêm từ các tế bào NK. Gillies et al. (US Pat. Publ. No. 2007/0036752) đã từng thay thế ba gốc của IL-2 (Asp20Thr, Asn88Arg, và Gln126Asp) đóng góp cho ái lực đối với thụ thể IL-2 ái lực trung gian để làm giảm VLS. Gillies et al. (WO 2008/0034473) cũng đã biến đổi mặt phân giới của IL-2 với CD25 bằng sự thay thế axit amin Arg38Trp và Phe42Lys để làm giảm sự tương tác với CD25 và sự hoạt hóa của các tế bào T_{reg} để nâng cao hiệu quả. Với cùng mục đích, Wittrup et al. (WO 2009/061853) đã từng tạo ra các IL-2 đột biến có ái lực nâng cao với CD25, mà không hoạt hóa thụ thể, do đó hoạt động như các chất đối kháng. Các sự biến đổi đã đưa ra hướng tới việc phá vỡ sự tương tác với đơn vị con β- và/hoặc γ- của thụ thể.

Tuy nhiên, không có một trong các IL-2 đột biến đã biết nào được thể hiện để khắc phục tất cả các vấn đề nêu trên được kết hợp với IL-2 điều trị miễn dịch, cụ thể là độc tính do sự kích thích của VLS, sự chịu đựng khối u do sự kích thích của AICD, và sự ức chế miễn dịch do sự hoạt hóa của các tế bào T_{reg}. Do đó, vẫn có nhu cầu trong lĩnh vực kỹ thuật về việc nâng cao hơn nữa sự hữu ích về mặt điều trị của các protein IL-2.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế dựa vào, từng phần, việc thừa nhận rằng sự tương tác của IL-2 với nhóm nhỏ α của trime, thụ thể IL-2 ái lực cao chịu trách nhiệm về các vấn đề được kết hợp với IL-2 điều trị miễn dịch.

Như vậy, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế cung cấp polypeptit interleukin-2 (IL-2) đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin thứ nhất hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với

polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ nhất này là ở vị trí tương ứng với gốc 72 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ nhất này là sự thay thế axit amin, được chọn từ nhóm bao gồm L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo một phương án cụ thể hơn sự biến đổi axit amin thứ nhất này là sự thay thế axit amin L72G. Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin thứ hai hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí được chọn từ các vị trí tương ứng với gốc 35, 38, 42, 43, và 45 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí tương ứng với gốc 42 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể hơn, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin, được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, và F42K. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin F42A. Theo các phương án nhất định, polypeptit interleukin-2 đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin thứ ba hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Theo một phương án cụ thể, polypeptit interleukin-2 đột biến bao gồm ba sự biến đổi axit amin hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên, trong đó ba sự biến đổi axit amin này là ở các vị trí tương ứng với gốc 42, 45, và 72 của IL-2 người. Theo một phương án, ba sự biến đổi axit amin này là các sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo một phương án cụ thể, ba sự biến đổi axit amin này là các sự thay

thế axit amin F42A, Y45A và L72G. Theo các phương án nhất định, polypeptit interleukin-2 đột biến còn bao gồm sự biến đổi axit amin trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin này trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K, và T3P. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người là T3A. Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến về cơ bản là toàn bộ độ dài phân tử IL-2, cụ thể là toàn bộ độ dài phân tử IL-2 người.

Sáng chế còn cung cấp để polypeptit interleukin-2 đột biến được liên kết với gốc không IL-2. Theo các phương án nhất định, gốc không IL-2 này là gốc đích. Theo các phương án nhất định gốc không IL-2 này là gốc liên kết kháng nguyên. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên này là kháng thể. Theo một phương án khác, gốc liên kết kháng nguyên này là phần kháng thể. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên này được chọn từ phân tử Fab và phân tử scFv. Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên này là phân tử Fab. Theo một phương án khác, gốc liên kết kháng nguyên này là phân tử scFv. Các phương án cụ thể là polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với gốc không IL-2 thứ nhất và thứ hai. Theo phương án này, polypeptit interleukin-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với gốc không phải IL-2 thứ nhất này và liên kết peptit đầu amino với gốc không IL-2 thứ hai này. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên này là phân tử globulin miễn dịch. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên này là Lớp IgG, cụ thể là lớp phụ IgG_1, phân tử globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, gốc liên kết kháng nguyên này hướng đích đến kháng nguyên có mặt trên tế bào khối u hoặc trong điều kiện tế bào khối u, cụ thể là kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), miền A1 của Tenasxin-C (TNC A1), miền A2 của Tenasxin-C (TNC A2), miền B phụ của Fibronectin

(EDB), kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và Chondroitin Sulfat Proteoglycan kết hợp khối u ác tính (MCSP).

Cũng được cung cấp bởi sáng chế là thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế, và gốc liên kết kháng nguyên. Theo một phương án của thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế, polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên này. Các phương án cụ thể là, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm như gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai. Theo phương án này, polypeptit IL-2 đột biến được bao gồm trong thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và gốc liên kết kháng nguyên thứ hai chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với hoặc i) polypeptit IL-2 đột biến hoặc ii) gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất này. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên được bao gồm trong thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế là kháng thể, theo một phương án khác, gốc liên kết kháng nguyên này là phần kháng thể. Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên này được chọn từ phân tử Fab và phân tử scFv. Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên này là phân tử Fab. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên này là phân tử globulin miễn dịch. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên này là lớp IgG, cụ thể là lớp phụ IgG_1, phân tử globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, gốc liên kết kháng nguyên này hướng đích đến kháng nguyên có mặt trên tế bào khối u hoặc trong điều kiện tế bào khối u, cụ thể là kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), miền A1 của Tenasxin-C (TNC A1), miền A2 của Tenasxin-C (TNC A2), miền B phụ của Fibronectin (EDB), kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và Chondroitin Sulfat Proteoglycan kết hợp khối u ác tính (MCSP).

Sáng chế còn cung cấp các polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế, các vectơ biểu hiện bao gồm các polynucleotit này, và các tế bào chủ bao gồm các polynucleotit hoặc các vectơ biểu hiện.

Cũng được cung cấp là phương pháp sản xuất polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế, chế phẩm dược bao gồm polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế và chất mang dược dụng, và các phương pháp sử dụng polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế.

Cụ thể là, sáng chế chứa polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh ở một cá thể cần chúng. Theo một phương án cụ thể, bệnh này là bệnh ung thư. Theo một phương án cụ thể, cá thể là người.

Cũng được đề cập đến trong sáng chế là việc sử dụng polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế để sản xuất dược phẩm để điều trị bệnh ở một cá thể cần chúng.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều trị bệnh ở một cá thể, trong đó phương pháp này bao gồm việc cung cấp cho cá thể này một lượng điều trị hữu hiệu của chế phẩm bao gồm polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế. Bệnh này tốt hơn là bệnh ung thư.

Cũng được cung cấp là phương pháp kích thích hệ miễn dịch của một cá thể, bao gồm việc cung cấp cho cá thể này một lượng hữu hiệu chế phẩm bao gồm polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch được mô tả theo sáng chế ở dạng dược dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1. Biểu đồ trình bày các dạng thức thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab (A) và IgG-IL-2 (B), bao gồm polypeptit IL-2 đột biến.

Fig. 2. Sự tinh chế của cấu trúc IL-2 dạng tự nhiên trần. (A) Sắc phổ của sự tinh chế nhãn His cho IL-2 dạng tự nhiên trần; (B) SDS PAGE của protein đã tinh chế (8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen), đệm trượt MES).

Fig. 3. Sự tinh chế của cấu trúc IL-2 dạng tự nhiên trần. (A) Sắc phổ của sắc ký loại trừ kích thước cho IL-2 dạng tự nhiên; (B) SDS PAGE của protein đã tinh chế (8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen), đệm trượt MES).

Fig. 4. Sắc ký phân tích loại trừ kích thước cho IL-2 dạng tự nhiên như được xác định trên Superdex 75, 10/300 GL. Bể 1 bao gồm 74% của các loài 23 kDa và các loài 26% của 20 kDa, Bể 2 bao gồm 40% của các loài 22 kDa và 60% của các loài 20 kDa.

Fig. 5. Sự tinh chế của cấu trúc IL-2 bội bốn đột biến trần. (A) Sắc phổ của sự tinh chế thẻ His đối với IL-2 bội bốn đột biến; (B) SDS PAGE của protein đã tinh chế (8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen), đệm trượt MES).

Fig. 6. Sự tinh chế của cấu trúc IL-2 bội bốn đột biến trần. (A) Sắc phổ của sắc ký loại trừ kích thước đối với IL-2 bội bốn đột biến; (B) SDS PAGE của protein đã tinh chế (8-12% Bis-Tris (NuPage, Invitrogen), đệm trượt MES).

Fig. 7. Sắc ký phân tích loại trừ kích thước đối với IL-2 bội bốn đột biến như được xác định trên Superdex 75, 10/300 GL (bể 2, 20 kDa).

Fig. 8. Sự gắn kết đồng thời với IL-2R và FAP người bằng FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 29B11 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn. (A) Sự thiết lập của thử nghiệm SPR; (B) sensorgram SPR.

Fig. 9. Sự kích thích của sự giải phóng IFN-γ bằng các tế bào NK92 bằng FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến, khi so với Proleukin, trong dung dịch.

Fig. 10. Sự kích thích của sự tăng sinh của các tế bào NK được phân lập (đáy) bằng FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến, khi so với Proleukin, trong dung dịch.

Fig. 11. Sự kích thích của sự tăng sinh của các tế bào T $CD3^+$ hoạt hóa bằng FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến, khi so với Proleukin, trong dung dịch.

Fig. 12. Sự kích thích của sự hoạt hóa gây ra chết tế bào (AICD) của các tế bào T được kích thích toàn bộ bằng FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến, khi so với Proleukin, trong dung dịch.

Fig. 13. Thử nghiệm Phospho-STAT5 FACS trong dung dịch với FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, khi so với Proleukin, trong dung dịch. (A) Các tế bào T điều tiết ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$); (B) các tế bào T $CD8^+$ ($CD3^+CD8^+$); (C) các tế bào T $CD4^+$ ($CD4^+CD25^-CD127^+$); (D) các tế bào NK ($CD3^-CD56^+$).

Fig. 14. Sự tinh chế của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1. (A) Hồ sơ tách rửa của cột Protein G. (B) Hồ sơ tách rửa của cột loại trừ theo kích thước Superdex 200. (C) Novex Tris-Glyxin 4-20% SDS-PAGE của sản phẩm cuối cùng với mẫu không được giảm và được giảm.

Fig. 15. Sự tinh chế của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab gốc 4G8. (A) Hồ sơ tách rửa của cột Protein A. (B) Hồ sơ tách rửa của cột loại trừ theo kích thước Superdex 200. (C) NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel (Invitrogen), đệm trượt MOPS của sản phẩm cuối cùng với mẫu không được giảm và được giảm.

Fig. 16. Sự tinh chế của thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL2QM-Fab hướng đích MHLG1 KV9 MCSP. (A) Hồ sơ tách rửa của cột Protein A, B) Hồ sơ tách rửa của cột loại trừ theo kích thước Superdex 200. C) NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, đệm trượt MOPS của sản phẩm cuối cùng với mẫu không được giảm và được giảm.

Fig. 17. Sự gắn kết đích của các cấu trúc Fab-IL-2-Fab trên các tế bào FAP người HEK 293.

Fig. 18. Sự gắn kết đích của các cấu trúc Fab-IL-2-Fab trên các tế bào FAP người HEK 293.

Fig. 19. Sự gắn kết đặc trưng của các cấu trúc Fab-IL-2-Fab như được xác định trên các tế bào được truyền nhiễm giả HEK 293 và DPPIV người HEK 293. Sự gắn kết của kháng thể DPPIV đặc trưng (CD26) được thể hiện trên phía phải.

Fig. 20. Phân tích về sự tiếp thu FAP nhờ sự gắn kết của các cấu trúc Fab-IL-2-Fab với FAP trên các nguyên bào sợi GM05389.

Fig. 21. IL-2 gây ra sự giải phóng IFN-γ bằng các tế bào NK92 trong dung dịch.

Fig. 22. IL-2 gây ra sự giải phóng IFN-γ bằng các tế bào NK92 trong dung dịch.

Fig. 23. IL-2 gây ra sự tăng sinh của các tế NK92 bào trong dung dịch.

Fig. 24. Đánh giá về các vô tính Fab-IL-2-Fab 28H1 và 29B11 và 4G8 trong thử nghiệm sự phosphoryl hóa STAT5 với các PBMCs trong dung dịch. (A) các tế bào NK ($CD3^-CD56^+$); (B) các tế bào T $CD8^+$ ($CD3^+CD8^+$); (C) các tế bào T $CD4^+$ ($CD3^+CD4^+CD25^-CD127^+$); (D) các tế bào T điều tiết ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$).

Fig. 25. Hiệu quả của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab trong dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến tế bào thận người ACHN.

Fig. 26. Hiệu quả của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8 FAP-IL-2 qm-Fab và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab ở dòng tế bào ung thư biểu mô phổi Lewis động vật gặm nhấm LLC1.

Fig. 27. Hiệu quả của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab ở dòng tế bào ung thư biểu mô phổi Lewis động vật gặm nhấm LLC1.

Fig. 28. Sự mở rộng thấp hơn (100x) của các phổi chuột được xử lý bằng đối chứng truyền (A) hoặc 9 μg/g wt IL-2 (B) hoặc qm IL-2 (C). Các phổi chuột được xử lý bằng 9 μg/g wt IL-2 thể hiện sự thâm nhập đơn nhân ống nhỏ đã di chuyển trong các khoảng trống túi phổi. Phù và sự xuất huyết cũng có mặt. Sự

thâm nhập rất thấp được quan sát ở chuột được xử lý bằng qm IL-2 xung quanh một vài mạch.

Fig. 29. Sự mở rộng cao hơn (200x) của các phổi được thể hiện ở Fig. 28. Sự tạo bờ và sự thâm nhiễm của các tế bào đơn nhân trong các mạch máu xung quanh là nghiêm trọng ở chuột được xử lý bằng wt IL-2 (A) hơn ở chuột được xử lý bằng qm IL-2 (B và C).

Fig. 30. Sự mở rộng thấp hơn (100x) của các gan chuột được xử lý bằng đối chứng truyền (A) hoặc 9 μg/g wt IL-2 (B) hoặc qm IL-2 (C). Sự thâm nhiễm ống nhỏ được quan sát thấy ở chuột được xử lý bằng wt IL-2.

Fig. 31. Sự bài tiết IFN-γ bằng các tế bào NK92 trong khi nuôi cấy với các chế phẩm IL-2 dạng tự nhiên (wt) và bội bốn đột biến (qm) khác nhau trong 24 (A) hoặc 48 giờ (B).

Fig. 32. Sự tăng sinh của các tế bào NK92 trong khi nuôi cấy với các chế phẩm IL-2 dạng tự nhiên (wt) và bội bốn đột biến (qm) khác nhau trong 48 giờ.

Fig. 33. Sự tăng sinh của các tế bào NK92 trong khi nuôi cấy với các chế phẩm IL-2 dạng tự nhiên (wt) và bội bốn đột biến (qm) trong 48 giờ.

Fig. 34. Sự tăng sinh của các tế bào NK trong khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác nhau hoặc Proleukin trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày.

Fig. 35. Sự tăng sinh của các tế bào T CD4 trong khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác nhau hoặc Proleukin trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày.

Fig. 36. Sự tăng sinh của các tế bào T CD8 trong khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác nhau hoặc Proleukin trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày.

Fig. 37. Sự tăng sinh của các tế bào NK (A), các tế bào T CD4 (B) và các tế bào T CD8 (C) trong khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 khác nhau hoặc Proleukin trong 6 ngày.

Fig. 38. Sự phosphoryl hóa STAT trong các tế bào NK (A), các tế bào T CD8 (B), các tế bào T CD4 (C) và các tế bào T điều tiết (D) sau 30 phút nuôi cấy với Proleukin, IL-2 dạng tự nhiên và IL-2 đột biến bội bốn được tạo ra nội bộ.

Fig. 39. Sự phosphoryl hóa STAT trong các tế bào NK (A), các tế bào T CD8 (B), các tế bào T CD4 (C) và các tế bào T điều tiết (D) sau 30 phút nuôi cấy với Proleukin, IgG-IL-2 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc IgG-IL-2 bao gồm IL-2 đột biến bội bốn.

Fig. 40. Sự tồn tại của chuột Đen 6 sau khi cung cấp (một lần hằng ngày trong bảy ngày) hoặc các liều khác nhau của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn.

Fig. 41. Các nồng độ huyết thanh của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 sau khi cung cấp vào tĩnh mạch đơn của các cấu trúc IgG-IL-2 FAP-hướng đích (A) và không hướng đích (B) bao gồm IL-2 hoặc dạng tự nhiên (wt) hoặc bội bốn đột biến (qm).

Fig. 42. Các nồng độ huyết thanh của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 sau khi cung cấp vào tĩnh mạch đơn của các cấu trúc Fab-IL-2-Fab không hướng đích bao gồm IL-2 hoặc dạng tự nhiên (wt) hoặc bội bốn đột biến (qm).

Fig. 43. Sự tinh chế của IL-2 đột biến bội bốn. (A) Sắc ký ion kim loại được giữ cố định; (B) sắc ký loại trừ kích thước; (C) SDS PAGE dưới các các điều kiện biến đổi (NuPAGE Novex Bis-Tris gel (Invitrogen), đệm trượt MES); (D) sắc ký phân tích loại trừ kích thước (Superdex 75 10/300 GL).

Fig. 44. Sự tăng sinh của các tế bào T CD8 (A) và CD4 (B) được hoạt hóa trước sau 6 ngày nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 khác nhau.

Fig. 45. Sự hoạt hóa gây ra chết tế bào của các tế bào T $CD3^+$ sau 6 ngày nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 khác nhau và điều trị qua đêm với kháng thể kháng Fas.

Fig. 46. Sự tinh chế của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 bội bốn đột biến (qm) gốc 4G8. A) Hồ sơ tách rửa của bước sắc ký ái lực Protein A. B) Hồ sơ tách rửa của bước sắc ký loại trừ kích thước. C) SDS-PAGE phân tích (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, đệm trượt MOPS) của sản phẩm cuối cùng. D) Sắc ký phân tích loại trừ kích thước của sản phẩm cuối cùng trên cột Superdex 200 (hàm lượng monome 97%).

Fig. 47. Sự tinh chế của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm gốc 28H1. A) Hồ sơ tách rửa của bước sắc ký ái lực Protein A. B) Hồ sơ tách rửa của bước sắc ký loại trừ kích thước. C) SDS-PAGE phân tích (được giảm: NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, đệm trượt MOPS; không được giảm: NuPAGE Tris-Axetat, Invitrogen, đệm trượt Tris-Axetat) của sản phẩm cuối cùng. D) Sắc ký phân tích loại trừ kích thước của sản phẩm cuối cùng trên cột Superdex 200 (hàm lượng monome 100%).

Fig. 48. Sự gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8- gốc IgG-IL-2 qm với FAP người được biểu hiện trên các tế bào HEK 293 được truyền nhiễm ổn định khi được đo bằng FACS, khi so với cấu trúc Fab-IL-2 qm-Fab tương ứng.

Fig. 49. Sự giải phóng Interferon (IFN)-γ trên các tế bào NK92 gây ra bởi thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8-gốc IgG-IL-2 qm trong dung dịch, khi so với cấu trúc 28H1-gốc Fab-IL-2 qm-Fab.

Fig. 50. Phát hiện về STAT5 được phosphoryl hóa bằng FACS trong các loại tế bào T khác sau khi kích thích trong 20 phút với thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8-gốc IgG-IL-2 qm trong dung dịch, khi so với các cấu trúc 28H1-gốc Fab-IL-2-Fab và Fab-IL-2 qm-Fab cũng như Proleukin. A) các tế bào NK ($CD3^-CD56^+$); B) $CD8^+$ Các tế bào T ($CD3^+CD8^+$); C) Các tế bào T $CD4^+$ ($CD3^+CD4^+CD25^-CD127^+$); D) các tế bào T điều tiết ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Các thuật ngữ được sử dụng theo sáng chế thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này, trừ khi có quy định khác, như sau.

Thuật ngữ "interleukin-2" hoặc "IL-2" theo sáng chế, đề cập đến IL-2 tự nhiên bất kỳ từ nguồn động vật có xương sống bất kỳ, bao gồm các động vật có vú như các động vật linh trưởng (ví dụ, người) và các loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và các động vật gặm nhấm), trừ khi có quy định khác. Thuật ngữ chứa IL-2 không được xử lý cũng như dạng bất kỳ của IL-2 tạo ra từ quy trình trong tế bào. Thuật ngữ cũng chứa các biến thể có trong tự nhiên của IL-2, ví dụ các biến thể ghép hoặc các biến thể có quan hệ allen. Trình tự axit amin của IL-2 người làm mẫu được nêu trong SEQ ID NO: 1. IL-2 người không được xử lý bổ sung bao gồm 20 tín hiệu peptit axit amin đầu N- có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 272, mà không có trong phân tử IL-2 trưởng thành.

Thuật ngữ "IL-2 đột biến" hoặc "polypeptit IL-2 đột biến" theo sáng chế dự kiến bao gồm các dạng đột biến bất kỳ của các dạng khác nhau của phân tử IL-2 bao gồm IL-2 có chiều dài đầy đủ, các dạng rút ngắn của IL-2 và các dạng trong đó IL-2 được liên kết với phân tử khác như bằng sự hợp nhất hoặc kết hợp hóa học. "Chiều dài toàn vẹn" khi được sử dụng liên quan đến IL-2 dự kiến có nghĩa là độ dài phân tử IL-2 tự nhiên, trưởng thành. Ví dụ, IL-2 có chiều dài đầy đủ người đề cập đến phân tử có 133 axit amin (xem, ví dụ SEQ ID NO: 1). Các dạng khác của các IL-2 đột biến được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một sự biến đổi axit amin gây tác động đến sự tương tác của IL-2 với CD25. Sự biến đổi này có thể bao gồm sự thay thế, loại bỏ, cắt cụt hoặc cải biến của gốc axit amin dạng tự nhiên thông thường được đặt ở vị trí đó. Các đột biến đã thu được bởi sự thay thế axit amin được ưu tiên. Trừ khi có quy định khác, IL-2 đột biến có thể được đề cập đến ở đây như là đột biến trình tự peptit IL-2, đột biến polypeptit IL-2, đột biến protein IL-2 hoặc đột biến tương tự IL-2.

Thứ bậc của các dạng khác của IL-2 ở đây được tạo ra liên quan đến trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1. Các thứ bậc khác nhau có thể được sử dụng ở

đây để biểu thị cùng sự biến đổi. Ví dụ, sự biến đổi từ phenylalanin ở vị trí 42 thành alanin có thể được biểu thị như 42A, A42, A_{42}, F42A, hoặc Phe42Ala.

Thuật ngữ "sự biến đổi axit amin" theo sáng chế có nghĩa là bao gồm sự thay thế, loại bỏ, chèn, và cải biến các axit amin. Sự kết hợp bất kỳ của sự thay thế, loại bỏ, chèn, và cải biến có thể được thực hiện để đạt được ở cấu trúc cuối cùng, được cung cấp rằng cấu trúc cuối cùng sở hữu các đặc tính mong muốn, ví dụ, sự gắn kết giảm với CD25. Các sự loại bỏ và chèn trình tự axit amin bao gồm các sự loại bỏ và chèn đầu amino- và/hoặc cacboxy- của các axit amin. Một ví dụ về sự loại bỏ đầu là sự loại bỏ của gốc alanin ở vị trí số 1 của IL-2 người có chiều dài đầy đủ. Sự biến đổi các axit amin được ưu tiên là sự thay thế các axit amin. Với mục đích của sự thay thế, ví dụ các gắn kết đặc trưng của IL-2 polypeptit, sự thay thế các axit amin không bảo tồn, tức là việc thay thế một axit amin bằng axit amin khác có các đặc tính cấu trúc và/hoặc hóa học khác nhau, được ưu tiên. Các sự thay thế axit amin được ưu tiên bao gồm việc thay thế axit amin kỵ nước bằng ưa nước. Sự thay thế các axit amin bao gồm sự thay thế bởi các axit amin không có trong tự nhiên hoặc bởi các dẫn xuất axit amin có trong tự nhiên của 20 axit amin tiêu chuẩn (ví dụ, 4-hydroxyprolin, 3-metylhistidin, ornithin, homoserin, 5-hydroxylysin). Sự biến đổi các axit amin có thể được tạo ra nhờ sử dụng các phương pháp hóa học hoặc di truyền học đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các phương pháp di truyền học có thể bao gồm quá trình đột biến có hướng vị trí, PCR, sự tổng hợp gen và tương tự. Điều đó được suy tính rằng các phương pháp thay thế nhóm chuỗi bên của axit amin bằng các phương pháp khác ngoài công nghệ gen, như cải biến hóa học, cũng có thể có ích.

Theo sáng chế, dạng "dạng tự nhiên" của IL-2 là dạng IL-2 khác cùng một polypeptit IL-2 đột biến ngoại trừ dạng tự nhiên có axit amin dạng tự nhiên trong mỗi vị trí axit amin của polypeptit IL-2 đột biến. Ví dụ, nếu IL-2 đột biến là IL-2 có chiều dài đầy đủ (tức là IL-2 không được hợp nhất hoặc được tiếp hợp với phân tử bất kỳ khác), dạng tự nhiên của đột biến này là IL-2 có chiều dài đầy đủ tự nhiên. Nếu IL-2 đột biến là sự hợp nhất giữa IL-2 và polypeptit được mã hóa xuôi dòng khác của IL-2 (ví dụ, chuỗi kháng thể) dạng tự nhiên của IL-2 đột

biến này là IL-2 với trình tự axit amin dạng tự nhiên được hợp nhất để cùng xuôi dòng polypeptit. Hơn nữa, nếu IL-2 đột biến là dạng rút ngắn của IL-2 (trình tự được biến đổi hoặc được sửa đổi trong phần không bị rút gọn của IL-2) sau khi dạng tự nhiên của IL-2 đột biến này là tương tự IL-2 bị rút gọn có trình tự dạng tự nhiên. Với mục đích so sánh thụ thể IL-2 ái lực gắn kết hoặc sự hoạt hóa sinh học của các dạng khác của các đột biến IL-2 với dạng tự nhiên tương ứng của IL-2, thuật ngữ các dạng tự nhiên chứa của IL-2 bao gồm một hoặc nhiều sự biến đổi axit amin không tác động tới sự gắn kết thụ thể IL-2 khi so với IL-2 tự nhiên, có trong tự nhiên, ví dụ như sự thay thế của xystein ở vị trí tương ứng với gốc 125 của IL-2 người thành alanin. Trong một vài phương án IL-2 dạng tự nhiên phù hợp với mục đích của sáng chế bao gồm sự thay thế axit amin C125A (xem, SEQ ID NO: 3). Theo các phương án nhất định, theo sáng chế polypeptit IL-2 dạng tự nhiên trong đó polypeptit IL-2 đột biến được so sánh bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1. Theo các phương án khác, polypeptit IL-2 dạng tự nhiên trong đó polypeptit IL-2 đột biến được so sánh bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3.

Thuật ngữ "CD25" hoặc "nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2" theo sáng chế, đề cập đến CD25 tự nhiên bất kỳ từ nguồn động vật có xương sống bất kỳ, bao gồm các động vật có vú như các động vật linh trưởng (ví dụ, người) và các loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và các loài gặm nhấm), trừ khi có quy định khác. Thuật ngữ chứa "toàn bộ độ dài", CD25 không được xử lý cũng như dạng bất kỳ của CD25 tạo ra từ việc xử lý trong tế bào. Thuật ngữ cũng chứa các biến thể có trong tự nhiên của CD25, ví dụ các biến thể ghép hoặc các biến thể có quan hệ allen. Theo các phương án nhất định CD25 là CD25 người. Trình tự axit amin của CD25 người làm mẫu (với trình tự tín hiệu, Avi-thẻ và thẻ His) được nêu trong SEQ ID NO: 278.

Thuật ngữ "thụ thể IL-2 ái lực cao" theo sáng chế đề cập đến dạng dị trime của thụ thể IL-2, bao gồm thụ thể γ-đơn vị con (cũng được biết đến như thụ thể γ-đơn vị con xytokin thông thường, γ_c, hoặc CD132), thụ thể β-đơn vị con (cũng được biết đến như CD122 hoặc p70) và thụ thể nhóm nhỏ α (cũng được biết đến

như CD25 hoặc p55). Thuật ngữ "thụ thể IL-2 ái lực trung gian" bởi mối liên quan tương phản với thụ thể IL-2 chỉ bao gồm γ-đơn vị con và β-đơn vị con, không có nhóm nhỏ α (để cân nhắc, xem ví dụ Olejniczak and Kasprzak, Med Sci Monit 14, RA179-189 (2008)).

"Ái lực" đề cập đến cường độ của toàn bộ tổng số các sự tương tác không cộng hóa trị giữa vị trí gắn kết đơn của một phân tử (ví dụ, thụ thể) và đối tác gắn kết của chúng (ví dụ, phối tử). Trừ khi được chỉ thị khác, theo sáng chế, "ái lực gắn kết" đề cập đến ái lực gắn kết bên trong phản ánh sự tương tác 1:1 giữa các thành viên của một cặp gắn kết (ví dụ, thụ thể và phối tử). Ái lực của phân tử X với đối tác Y của nó nhìn chung có thể được miêu tả bởi sự ổn định phân ly (K_D), là tỷ lệ của sự phân ly và các sự ổn định tốc độ kết hợp (k_{off} và k_{on}, tương ứng). Do đó, các ái lực tương đương có thể bao gồm các sự ổn định tốc độ khác nhau, miễn là tỷ lệ của các sự ổn định tốc độ còn lại như nhau. Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp được xác định rõ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm các phương pháp được mô tả ở đây.

Ái lực của polypeptit IL-2 đột biến hoặc dạng tự nhiên đối với các dạng khác nhau của thụ thể IL-2 có thể được xác định theo phương pháp được thiết lập trong các Ví dụ bằng sự cộng hưởng bề mặt plasmon (SPR), sử dụng thiết bị đo tiêu chuẩn như thiết bị BIAcore (GE Healthcare) và các đơn vị con thụ thể như có thể đã thu được bằng sự tái tổ hợp biểu hiện (xem, ví dụ Shanafelt et al., Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000)). Ngoài ra, ái lực gắn kết của các IL-2 đột biến đối với các dạng khác nhau của Thụ thể IL-2 có thể được đánh giá nhờ sử dụng các dòng tế bào đã biết để biểu hiện ái lực này hoặc dạng ái lực khác của thụ thể. Sự miêu tả cụ thể và các phương án mẫu để đo đạc ái lực gắn kết được mô tả sau đây.

Bằng "tế bào T điều tiết" hoặc "tế bào T_{reg}" là loại đặc biệt của tế bào T $CD4^+$ có thể ngăn cản các phản ứng của các tế bào T khác. Các tế bào T_{reg} được đặc trưng bởi sự biểu hiện của nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 (CD25) và sao chép nhân tố forkhead box P3 (FOXP3) (Sakaguchi, Annu Rev Immunol 22, 531-62

(2004)) và đóng vai trò then chốt đối với sự kích thích và sự duy trì của sự tự chịu đựng thuốc ngoại vi với các kháng nguyên, bao gồm sự kích thích và sự duy trì này được biểu hiện bởi các khối u. Các tế bào T_{reg} quy định IL-2 về các đặc tính ngăn cản sự phát triển và kích thích của chúng và chức năng của chúng.

Theo sáng chế, thuật ngữ "các tế bào kích thích" đề cập đến quần thể các limphô bào làm trung gian cho các khả năng tác động gây hại tế bào của IL-2. Các tế bào kích thích bao gồm các tế bào T phản ứng như các tế bào T gây hại tế bào $CD8^+$, các tế bào NK, chất kích hoạt bạch cầu tiêu diệt hoạt tính (LAK) các tế bào và các thể thực khuẩn lớn/các bạch cầu đơn nhân to.

Theo sáng chế, thuật ngữ "gốc liên kết kháng nguyên" đề cập đến phân tử polypeptit đặc biệt là gắn kết với sự xác định kháng nguyên. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên có khả năng hướng toàn bộ gốc liên kết kháng nguyên được gắn kèm (ví dụ, gốc liên kết kháng nguyên xytokin hoặc thứ hai) với vị trí đích, ví dụ với loại tế bào khối u hoặc chất đệm khối u cụ thể liên quan đến việc xác định kháng nguyên. Gốc liên kết kháng nguyên bao gồm các kháng thể và các đoạn của chúng như được xác định tiếp ở đây. Gốc liên kết kháng nguyên được ưa thích bao gồm miền gắn kết kháng nguyên của kháng thể, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể. Theo các phương án nhất định, gốc liên kết kháng nguyên có thể bao gồm các vùng ổn định kháng thể như còn được xác định ở đây và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các vùng ổn định chuỗi nặng hữu ích bao gồm bất kỳ trong số năm isotyp: α, δ, ε, γ, hoặc μ. Các vùng ổn định chuỗi nhẹ hữu ích bao gồm bất kỳ trong số hai isotyp: κ và λ.

Bằng "gắn kết đặc biệt " là sự gắn kết được chọn cho kháng nguyên và có thể được phân biệt từ các sự tương tác không cụ thể hoặc không cần đến. Khả năng của gốc liên kết kháng nguyên gắn kết với sự xác định kháng nguyên cụ thể có thể được đo hoặc thông qua thử nghiệm hấp thụ được liên kết enzym (ELISA) hoặc các kỹ thuật khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ như kỹ thuật cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt

(được phân tích trên dụng cụ BIAcore) (Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)), và các thử nghiệm gắn kết truyền thống (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)).

Theo sáng chế, thuật ngữ "sự xác định kháng nguyên" đồng nghĩa với "kháng nguyên" và "epitop," và đề cập đến vị trí (ví dụ, mạch liền kề của các axit amin hoặc hình dạng đối xứng được lắp ghép của các vùng khác nhau của các axit amin không liền kề) trên phân tử lớn polypeptit với gốc liên kết kháng nguyên gắn kết, tạo thành phức hợp gốc liên kết kháng nguyên-kháng nguyên. Sự xác định các kháng nguyên hữu ích có thể được tìm thấy, ví dụ, trên các bề mặt của các tế bào khối u, trên các bề mặt của các tế bào nhiễm virut, trên các bề mặt của các tế bào mang bệnh khác, tự do trong huyết thanh máu, và/hoặc trong thể mẹ ngoại bào (ECM).

Theo sáng chế, thuật ngữ "polypeptit" đề cập đến phân tử được bao gồm của các monome (các axit amin) tuyến tính được liên kết bằng các liên kết amit (cũng được biết đến như các liên kết peptit). Thuật ngữ "polypeptit" đề cập đến chuỗi của hai hoặc nhiều axit amin bất kỳ, và không đề cập đến độ dài cụ thể của sản phẩm. Do đó, các peptit, các dipeptit, các tripeptit, các oligopeptit, "protein," "chuỗi axit amin," hoặc thuật ngữ bất kỳ khác được sử dụng để đề cập đến chuỗi của hai hoặc nhiều axit amin, được bao gồm trong định nghĩa về "polypeptit," và thuật ngữ "polypeptit" có thể được sử dụng bao gồm, hoặc có thể hóan đổi với các thuật ngữ bất kỳ của chúng. Thuật ngữ "polypeptit" cũng dự định đề cập đến các sản phẩm của các cải biến biểu hiện sau của polypeptit, bao gồm mà không giới hạn ở sự glycosyl hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, sự dẫn xuất bằng các nhóm bảo vệ/ngăn chặn đã biết, phân tách proteolytic, hoặc cải biến bởi các axit amin không có trong tự nhiên. Polypeptit có thể có nguồn gốc từ nguồn sinh học tự nhiên hoặc được tạo ra bởi công nghệ tái tổ hợp, mà không cần được biến đổi từ trình tự axit nucleic đã chỉ định. Nó có thể được tạo ra theo cách bất kỳ, bao gồm cả sự tổng hợp hóa học. Polypeptit theo sáng chế có thể có cỡ khoảng 3 hoặc lớn hơn, 5 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, 20 hoặc lớn hơn, 25 hoặc lớn hơn, 50 hoặc lớn hơn, 75 hoặc lớn hơn, 100 hoặc lớn

hơn, 200 hoặc lớn hơn, 500 hoặc lớn hơn, 1.000 hoặc lớn hơn, hoặc 2.000 hoặc lớn hơn các axit amin. Các polypeptit có thể có cấu trúc ba chiều được xác định, mặc dù chúng không cần có cấu trúc này. Các polypeptit với cấu trúc ba chiều được xác định được đề cập đến như được gấp, và các polypeptit không sở hữu cấu trúc ba chiều được xác định, ngưng hơn là có thể thông qua số lượng lớn của các thể cấu tạo khác nhau, và được đề cập đến như không được gấp nếp.

Bằng polypeptit hoặc biến thể "được phân lập", hoặc dẫn xuất của chúng được dành cho polypeptit không ở trong môi trường tự nhiên của chúng. Không có mức độ tinh chế cụ thể nào được yêu cầu. Ví dụ, polypeptit được phân lập có thể được loại bỏ từ thiên nhiên hoặc môi trường tự nhiên của chúng. Các polypeptit và các protein được tạo ra tái tổ hợp được biểu hiện trong các tế bào chủ được coi là được phân lập với mục đích của sáng chế, như là các polypeptit tái tổ hợp hoặc tự nhiên đã được tách rời, được phân đoạn, hoặc được tinh chế cơ bản hoặc từng phần bằng kỹ thuật phù hợp bất kỳ.

“Phần trăm (%) mức độ tương đồng về trình tự axit amin" liên quan đến trình tự polypeptit tham khảo được xác định như tỷ lệ của các gốc axit amin trong trình tự đưa ra đồng nhất với các gốc axit amin trong trình tự polypeptit tham khảo, sau khi so sánh các trình tự và đưa vào các kẽ hở, nếu cần, để đạt được phần trăm mức độ tương đồng tối đa, và không tính đến các thay thế bảo tồn bất kỳ như một phần của trình tự đồng nhất. Việc so sánh nhằm mục đích xác định phần trăm mức độ tương đồng về trình tự axit amin có thể đạt được theo các cách khác nhau trong phạm vi kỹ thuật trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, sử dụng phầm mềm máy tính có sẵn công khai như phầm mềm BLAST, BLAST-2, ALIGN hoặc Megalign (DNASTAR). Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể xác định các thông số phù hợp để so sánh các trình tự, bao gồm các thuật toán bất kỳ cần thiết để đạt được sự sắp hàng tối đa trên toàn bộ độ dài của các trình tự đang được so sánh. Phù hợp với mục đích này, tuy nhiên, các trị số % trình tự axit amin đồng nhất được tạo ra nhờ sử dụng chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2. Chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2 được tạo ra bởi Genentech, Inc., và mã

nguồn được nạp với tài liệu chứng minh của người sử dụng tại Cục Bản quyền Hoa Kỳ, Washington D.C., 20559, trong đó nó được đăng ký theo Đăng ký bản quyền Hoa Kỳ số TXU510087. Chương trình ALIGN-2 là công khai có sẵn từ Genentech, Inc., South San Francisco, California, hoặc có thể được biên soạn từ mã nguồn. Chương trình ALIGN-2 nên được biên soạn để sử dụng trên hệ điều hành UNIX, bao gồm UNIX V4,0D kỹ thuật số. Toàn bộ các thông số so sánh trình tự được cài đặt bởi chương trình ALIGN-2 và không thay đổi. Trong các trường hợp khi ALIGN-2 được sử dụng để so sánh trình tự axit amin, % mức độ tương đồng về trình tự axit amin của trình tự axit amin A đưa ra để, với, hoặc tương ứng với trình tự axit amin B (trong đó có thể còn được mô tả như trình tự axit amin A đưa ra có hoặc bao gồm % mức độ tương đồng về trình tự axit amin nhất định để, với, hoặc tương ứng với trình tự axit amin B) đưa ra được tính như sau:

100 lần phân số X/Y

trong đó X là số các gốc axit amin đã đạt được như sự đồng nhất bởi chương trình trình tự so sánh ALIGN-2 trong đó sự so sánh của chương trình của A và B, và trong đó Y là tổng số các gốc axit amin trong B. Cần hiểu rõ rằng trong đó độ dài của trình tự axit amin A không bằng độ dài của trình tự axit amin B, % mức độ tương đồng về trình tự axit amin của A so với B sẽ không bằng % mức độ tương đồng về trình tự axit amin của B so với A. Trừ khi có quy định khác, tất cả các trị số % mức độ tương đồng về trình tự axit amin được sử dụng theo sáng chế đã thu được như được mô tả ở trên bằng cách sử dụng trực tiếp chương trình máy tính ALIGN-2.

Thuật ngữ "polynucleotit" đề cập đến phân tử hoặc cấu trúc axit nucleic được phân lập, ví dụ ARN thông tin (mARN), ARN có nguồn gốc do virut gây ra, hoặc ADN plasmit (pADN). Polynucleotit có thể bao gồm liên kết phosphodieste thông thường hoặc liên kết không thông thường (ví dụ, liên kết amit, như đã tìm thấy trong các axit nucleic peptit (PNA). Thuật ngữ "phân tử

axit nucleic" đề cập đến một hoặc nhiều đoạn axit nucleic bất kỳ, ví dụ các đoạn ADN hoặc ARN, có mặt trong polynucleotit.

Bởi phân tử axit nucleic hoặc polynucleotit "được phân lập" dành cho phân tử axit nucleic, ADN hoặc ARN, đã được loại bỏ từ môi trường tự nhiên của chúng. Ví dụ, polynucleotit tái tổ hợp mã hóa polypeptit điều trị có trong vectơ được coi là được phân lập cho các mục đích của của sáng chế. Các ví dụ tiếp theo về polynucleotit được phân lập bao gồm các polynucleotit tái tổ hợp được duy trì trong các tế bào chủ bất thường hoặc các polynucleotit được tinh chế (từng phần hoặc cơ bản) trong dung dịch. Polynucleotit được phân lập bao gồm phân tử polynucleotit có trong các tế bào thường chứa phân tử polynucleotit, nhưng phân tử polynucleotit có mặt nhiễm sắc thể bổ sung hoặc ở vùng nhiễm sắc thể khác với vùng nhiễm sắc thể tự nhiên của chúng. Các phân tử ARN được phân lập bao gồm *in vivo* hoặc *in vitro* các bản sao ARN của sáng chế, cũng như các dạng mạch âm tính và dương tính, và các dạng mạch kép. Các polynucleotit hoặc các axit nucleic được phân lập theo sáng chế còn bao gồm các phân tử này được tạo ra bằng cách tổng hợp. Ngoài ra, polynucleotit hoặc axit nucleic có thể là hoặc có thể bao gồm phần tử điều tiết như chất tăng cường, ribosome gắn kết vị trí, hoặc đầu sao chép.

Bởi axit nucleic hoặc polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất, ví dụ, 95% "tương đồng" với trình tự nucleotit tham khảo của sáng chế, nó được dự kiến rằng trình tự nucleotit của polynucleotit là giống với trình tự tham khảo không kể trình tự polynucleotit có thể bao gồm lên đến 5 điểm biến đổi cho mỗi 100 nucleotit của trình tự nucleotit tham khảo. Nói cách khác, để thu được polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất 95% tương đồng với trình tự nucleotit tham khảo, lên đến 5% của các nucleotit trong trình tự tham khảo có thể được loại bỏ hoặc được thay thế bằng nucleotit khác, hoặc một số các nucleotit lên đến 5% của tổng số nucleotit trong trình tự tham khảo có thể được chèn vào trình tự tham khảo. Các sự thay thế này của trình tự tham khảo có thể xảy ra ở các vị trí đầu 5' hoặc 3' của trình tự nucleotit tham khảo hoặc ở vị trí bất kỳ giữa các vị trí đầu mút của chúng, được đặt rải rác hoặc riêng rẽ trong số các gốc

trong trình tự tham khảo hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liền kề trong trình tự tham khảo. Như một vấn đề thực tế, dù bất kỳ trình tự polynucleotit cụ thể là ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% đồng nhất với trình tự nucleotit của sáng chế có thể được xác định thông thường bằng cách sử dụng các chương trình máy tính đã biết, như các chương trình máy tính đã được thảo luận ở trên cho các polypeptit (ví dụ, ALIGN-2).

Thuật ngữ "catxét biểu hiện" đề cập đến polynucleotit được tạo ra bằng tái tổ hợp hoặc tổng hợp, có các chuỗi của các phần tử axit nucleic nhân tố cụ thể cho phép sao chép một axit nucleic cụ thể trong tế bào đích T. Sự tái tổ hợp catxét biểu hiện có thể được kết hợp trong một plasmit, nhiễm sắc thể, ADN ty thể, ADN thể hạt, virut, hoặc đoạn axit nucleic. Cụ thể là, phần tái tổ hợp catxét biểu hiện hoặc vectơ biểu hiện bao gồm, trong số các trình tự khác, trình tự axit nucleic cần được sao chép và tăng cường chất. Theo các phương án nhất định, catxét biểu hiện của sáng chế bao gồm các trình tự polynucleotit mã hóa các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế hoặc các đoạn của chúng.

Thuật ngữ “vectơ” hoặc "vectơ biểu hiện" đồng nghĩa với " cấu trúc biểu hiện " và đề cập đến phân tử ADN được sử dụng để đưa vào và chỉ dẫn sự biểu hiện của một gen cụ thể để trong đó nó được liên kết một cách có kiểm soát trong một tế bào đích T. Thuật ngữ bao gồm vectơ như một cấu trúc axit nucleic tự nhân bản cũng như vectơ được kết hợp trong bộ gen của tế bào chủ trong đó đã được đưa ra. Vectơ biểu hiện của sáng chế bao gồm catxét biểu hiện. Các vectơ biểu hiện cho phép sao chép một số lượng lớn mARN ổn định. Một lần vectơ biểu hiện bên trong tế bào đích T, phân tử axit ribonucleic hoặc protein được mã hóa bằng gen được tạo ra bằng sự sao chép tế bào và/hoặc cơ chế chuyển dịch. Theo một phương án, vectơ biểu hiện của sáng chế bao gồm catxét biểu hiện bao gồm các trình tự polynucleotit mã hóa các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế hoặc các đoạn của chúng.

Thuật ngữ "nhân tạo" đề cập đến chế phẩm có nguồn gốc tổng hợp hoặc không từ tế bào chủ, ví dụ ligonucleotit được tổng hợp hóa học.

Các thuật ngữ "tế bào chủ", "dòng tế bào chủ" và "nuôi cấy tế bào chủ" được sử dụng có thể thay thế cho nhau và đề cập đến các tế bào trong đó axit nucleic ngoại sinh đã được đưa ra, bao gồm dòng thế hệ các tế bào này. Các tế bào chủ bao gồm "các sự biến đổi" và "các tế bào được biến đổi," trong đó bao gồm tế bào được biến đổi sơ cấp và thế hệ có nguồn gốc từ chúng mà không đề cập đến số lượng của các vòi. Thế hệ có thể không hoàn toàn đồng nhất về hàm lượng axit nucleic với tế bào mẹ T, nhưng có thể bao gồm các sự biến đổi. Thế hệ đột biến có cùng chức năng hoặc hoạt hóa sinh học khi được sang lọc hoặc được chọn trong tế bào được biến đổi đầu tiên được bao gồm ở đây.

Thuật ngữ "kháng thể" ở đây được sử dụng với nghĩa rộng nhất và chứa các cấu trúc kháng thể khác nhau, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở, các kháng thể đơn dòng, các kháng thể đa dòng, các kháng thể đa đặc trưng (ví dụ, các kháng thể hai đặc trưng), và các phần kháng thể miễn là chúng biểu hiện sự hoạt hóa gắn kết kháng nguyên mong muốn.

Các thuật ngữ “kháng thể có chiều dài đầy đủ”, “kháng thể nguyên vẹn” và “toàn bộ kháng thể” được sử dụng theo sáng chế có thể thay thế lẫn nhau để đề cập đến kháng thể có cấu trúc về cơ bản tương tự với cấu trúc kháng thể tự nhiên hoặc có các chuỗi nặng chứa vùng Fc như được xác định theo sáng chế.

"Phần kháng thể" đề cập đến phân tử khác ngoài kháng thể nguyên vẹn bao gồm một phần của kháng nguyên gắn kết nguyên vẹn kháng thể với gắn kết nguyên vẹn kháng thể. Các ví dụ về các phần kháng thể bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, các diabodies, các kháng thể tuyến, các phân tử kháng thể chuỗi đơn (ví dụ, scFv), và các kháng thể đa loài được tạo thành từ các phần kháng thể. Để xem xét về các phần kháng thể nhất định, xem Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003). Để xem xét về các đoạn scFv, xem, ví dụ Plückthun, trong The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York,

pp. 269-315 (1994); cũng xem WO 93/16185; và U.S 5,571,894 và US 5,587,458. Để thảo luận về Fab và $F(ab')_2$ các đoạn bao gồm các gốc epitop gắn kết thụ thể được tận dụng và có chu kỳ bán thải *in vivo* tăng, xem US 5,869,046. Các diabodies là các phần kháng thể với hai vị trí gắn kết kháng nguyên mà có thể là có hóa trị hai hoặc hai đặc trưng. Xem, ví dụ, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003); và Hollinger et al., Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993). Các triabodies và tetrabodies cũng được mô tả trong Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003). Các phần kháng thể có thể được làm bởi các kỹ thuật khác nhau, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở sự phân cắt proteolytic của kháng thể nguyên vẹn cũng như sự sản xuất bởi sự tái tổ hợp các tế bào chủ (ví dụ *E. coli* hoặc thể thực khuẩn), theo sáng chế.

Thuật ngữ "phân tử globulin miễn dịch" đề cập đến protein có cấu trúc của một kháng thể có trong tự nhiên. Ví dụ, các globulin miễn dịch của lớp IgG là các glycoprotein heterotetrame của khoảng 150.000 đơn vị khối lượng nguyên tử, được bao gồm của hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng được gắn kết disulfit. Từ đầu N- đến C-, mỗi chuỗi nặng có vùng biến đổi (VH), cũng được gọi là miền nặng hoặc miền biến đổi chuỗi nặng biến thiên, tiếp theo bằng ba miền ổn định (CH1, CH2, và CH3), cũng được gọi là vùng ổn định chuỗi nặng. Tương tự, từ đầu N- đến C-, mỗi chuỗi nhẹ có vùng biến đổi (VL), cũng được gọi là miền nhẹ hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ biến đổi, tiếp theo bằng miền nhẹ ổn định (CL), cũng được gọi là vùng ổn định chuỗi nhẹ. Chuỗi nặng của globulin miễn dịch có thể được chỉ định cho một trong năm lớp, có tên gọi α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG), hoặc μ (IgM), một vài trong số chúng còn có thể được tách thành các lớp phụ, ví dụ γ_1 (IgG_1), γ_2 (IgG_2), γ_3 (IgG_3), γ_4 (IgG_4), α_1 (IgA_1) và α_2 (IgA_2). Chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch có thể được gán cho một trong hai loại, có tên gọi kappa (κ) và Lambda (λ), dựa vào trình tự axit amin của miền ổn định của chúng. Một globulin miễn dịch về cơ bản gồm có hai phân tử Fab và một miền Fc, được liên kết nhờ vùng nối globulin miễn dịch.

Thuật ngữ "miền gắn kết kháng nguyên" đề cập đến một phần của kháng thể bao gồm vùng gắn kết đặc biệt với và bổ sung cho một phần hoặc toàn bộ

kháng nguyên. Miền gắn kết kháng nguyên có thể được cung cấp bằng, ví dụ, một hoặc nhiều miền biến đổi kháng thể (cũng được gọi là vùng biến đổi kháng thể). Tốt hơn là, miền gắn kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể (VH).

Thuật ngữ "vùng biến đổi" hoặc "miền biến đổi" đề cập đến miền của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng kháng thể được bao gồm trong sự gắn kết kháng thể với kháng nguyên. Các miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (VH và VL, tương ứng) của kháng thể tự nhiên nhìn chung có các cấu trúc tương tự, với mỗi miền bao gồm bốn vùng khung bảo tồn (FR) và ba vùng siêu biến đổi (HVR). Xem, ví dụ, Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007). Miền VH hoặc VL đơn có thể có khả năng để trao sự gắn kết kháng nguyên đặc trưng.

Thuật ngữ "vùng siêu biến đổi" hoặc "HVR", theo sáng chế, đề cập đến mỗi trong các vùng của miền biến đổi kháng thể là siêu biến đổi trong trình tự và/hoặc tạo các vòng được xác định cấu trúc ("các vòng siêu biến đổi"). Nhìn chung, các kháng thể bốn chuỗi tự nhiên bao gồm sáu HVRs; ba trong VH (H1, H2, H3), và ba trong VL (L1, L2, L3). Các HVR nhìn chung bao gồm các gốc axit amin từ các vòng siêu biến đổi và/hoặc từ các vùng xác định bổ trợ (CDR), sau cùng là khả năng biến đổi trình tự cao nhất và/hoặc được bao gồm khi nhận dạng kháng nguyên. Với sự loại bỏ của CDR1 trong VH, CDR nhìn chung bao gồm các gốc axit amin tạo thành các vòng siêu biến đổi. Các vùng siêu biến đổi (HVRs) cũng được đề cập đến như "các vùng xác định bổ trợ" (CDR), và các thuật ngữ này được sử dụng ở đây có thể thay thế cho nhau khi tham khảo với các phần của vùng biến đổi tạo thành các vùng gắn kết kháng nguyên. Vùng cụ thể đã được mô tả bởi Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, Các Sequnces of Các protein of Immunological Interest (1983) and by Chothia et al., J Mol Biol 196:901-917 (1987), trong đó các định nghĩa bao gồm việc trồng lắp hoặc các tập hợp con của các gốc axit amin khi được so sánh tương phản với nhau. Tuy nhiên, ứng dụng về hoặc định nghĩa để đề cập đến CDR của kháng thể hoặc các biến thể của chúng được dự định thuộc phạm vi của thuật

ngữ như được xác định và được sử dụng ở đây. Các gốc axit amin thích hợp trong đó bao gồm CDRs như được xác định bởi mỗi trong số các tham khảo đối chứng nêu trên được thiết lập dưới đây trong Bảng 1 như một sự so sánh. Số lượng các gốc chính xác trong đó bao gồm CDR cụ thể sẽ khác nhau tùy thuộc vào trình tự và kích cỡ của CDR. Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định trong đó các gốc bao gồm CDR cụ thể đem lại trình tự vùng biến đổi axit amin của kháng thể.

Bảng 1. Các định nghĩa[1] CDR

CDR	**Kabat**	**Chothia**	**AbM[2]**
V_H CDR1	31-35	26-32	26-35
V_H CDR2	50-65	52-58	50-58
V_H CDR3	95-102	95-102	95-102
V_L CDR1	24-34	26-32	24-34
V_L CDR2	50-56	50-52	50-56
V_L CDR3	89-97	91-96	89-97

[1] Đánh số của toàn bộ các định nghĩa CDR trong Bảng 1 là theo các quy tắc đánh số được thiết lập bởi Kabat và cộng sự. (xem bên dưới).

[2] "AbM" với chữ "b" thường như được sử dụng trong Bảng 1 đề cập đến CDRs như được xác định bởi phần mềm mô hình kháng thể "AbM" của phân tử Oxford.

Phương pháp đánh số của Kabat và cộng sự cũng được xác định hệ đánh số trong các trình tự vùng biến đổi có thể áp dụng cho kháng thể bất kỳ. Một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể quy một cách rõ ràng hệ thống "đánh số Kabat" này cho trình tự vùng biến đổi bất kỳ, mà không dựa vào dữ liệu thử nghiệm bất kỳ ngoài trình tự của nó. Theo sáng chế, "đánh số Kabat" đề cập đến hệ thống đánh số được thiết lập bởi Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Các protein of Immunological Interest" (1983). Trừ khi có quy định khác, các tham khảo với việc đánh số của các vị trí gốc axit amin đặc trưng trong vùng biến đổi kháng thể là theo hệ đánh số Kabat.

Trình tự polypeptit của danh mục trình tự (tức là, các SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, v.v..) không được đánh số theo hệ đánh số Kabat. Tuy nhiên, nó cũng thuộc kỹ năng thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật để chuyển đổi việc đánh số của các trình tự của Danh mục trình tự sang hệ đánh số Kabat.

"Khung" hoặc " FR " đề cập đến các gốc miền biến đổi khác ngoài các gốc vùng siêu biến đổi (HVR). FR của miền biến đổi nhìn chung gồm có bốn miền FR: FR1, FR2, FR3 và FR4. Như vậy, các trình tự HVR và FR nhìn chung có mặt trong trình tự sau trong VH (hoặc VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

“Lớp” của kháng thể đề cập đến loại của miền ổn định hoặc vùng ổn định bị chiếm giữ bởi chuỗi nặng của chúng. Có 5 lớp chính của các kháng thể: IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, và một vài trong số chúng còn có thể được tách thành các lớp phụ (các isotyp), ví dụ, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 và IgA_2. Các miền ổn định chuỗi nặng tương ứng với các lớp khác nhau của các globulin miễn dịch có tên gọi α, δ, ε, γ và μ, tương ứng.

Thuật ngữ “vùng Fc” ở đây được sử dụng để xác định vùng đầu C- của chuỗi nặng globulin miễn dịch chứa ít nhất một phần của vùng ổn định. Thuật ngữ bao gồm trình tự vùng Fcs tự nhiên và vùng Fcs biến thể. Mặc dù các gắn kết của vùng Fc của chuỗi nặng IgG có thể khác biệt đôi chút, vùng Fc chuỗi nặng IgG người thường được xác định để kéo dài từ Cys226, hoặc từ Pro230, đến đầu đầu cacboxyl-của chuỗi nặng. Tuy nhiên, lysin đầu C- (Lys447) của vùng Fc có thể có mặt hoặc không.

“Cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa” là sự thao tác của peptit xương sống hoặc các cải biến tịnh tiến sau của một polypeptit, ví dụ chuỗi nặng globulin miễn dịch, làm giảm hoặc ngăn ngừa sự kết hợp của polypeptit với polypeptit đồng nhất để tạo thành hợp chất dị dime. Cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa theo sáng chế cụ thể là bao gồm các cải biến riêng rẽ được thực hiện cho mỗi trong hai polypeptit đương mong muốn để tạo thành một hợp chất dime, trong đó các

cải biến bổ sung cho nhau khi đẩy mạnh sự kết hợp của hai các polypeptit. Ví dụ, cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa có thể thay đổi cấu trúc hoặc làm thay đổi về một hoặc cả hai polypeptit được mong muốn để tạo thành một hợp chất dime khi thực hiện sự kết hợp của chúng thuận lợi về không gian hoặc tĩnh điện, tương ứng. Sự dị dime hóa xảy ra giữa hai polypeptit không đồng nhất, như hai chuỗi nặng globulin miễn dịch trong đó các thành phần thể tiếp hợp miễn dịch còn được hợp nhất với mỗi trong các chuỗi nặng (ví dụ, IL-2 polypeptit) là không giống nhau. Trong các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa là trong các chuỗi nặng, đặc biệt là trong miền Fc, của một phân tử globulin miễn dịch. Trong một vài phương án, cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa bao gồm sự biến đổi axit amin, đặc biệt là sự thay thế axit amin. Theo một phương án cụ thể, cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa bao gồm sự biến đổi axit amin riêng rẽ, đặc biệt là sự thay thế axit amin, ở mỗi trong hai chuỗi nặng globulin miễn dịch.

Thuật ngữ "các chức năng phản ứng" khi được sử dụng để tham khảo cho các kháng thể đề cập đến các hoạt động sinh học này có thể quy cho vùng Fc của kháng thể, khác với isotyp kháng thể. Các ví dụ về các chức năng phản ứng kháng thể bao gồm: sự gắn kết C1q và khả năng gây hại tế bào phụ thuộc bổ sung (CDC), sự gắn kết thụ thể Fc, khả năng gây hại tế bào trung gian tế bào T phụ thuộc kháng thể (ADCC), sự thực bào tế bào T phụ thuộc kháng thể (ADCP), sự bài tiết xytokin, sự điều chỉnh giảm của các thụ thể bề mặt bề mặt (ví dụ, thụ thể tế bào B), và sự hoạt hóa tế bào B.

"Thụ thể Fc hoạt hóa" là thụ thể Fc được kích hoạt sau đó bởi vùng Fc của kháng thể phản ứng các sự kiện phát tín hiệu mà kích thích tế bào mang thụ thể để thực hiện các chức năng phản ứng. Các thụ thể Fc hoạt hóa bao gồm FcγRIIIa (CD16a), FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32), và FcαRI (CD89).

Theo sáng chế, các thuật ngữ liên quan đến "sử dụng kỹ thuật di truyền", được coi là bao gồm thao tác bất kỳ của peptit khung hoặc các cải biến tịnh tiến sau của polypeptit có trong tự nhiên hoặc tái tổ hợp hoặc đoạn của chúng. Sử

dụng kỹ thuật di truyền học bao gồm các cải biến của trình tự axit amin, của gốc glycosyl hóa, hoặc của nhóm chuỗi bên của từng axit amin, cũng như các sự kết hợp của các phương pháp này.

Theo sáng chế, thuật ngữ "thể tiếp hợp miễn dịch" đề cập đến phân tử polypeptit bao gồm ít nhất một gốc IL-2 và ít nhất một gốc liên kết kháng nguyên. Theo các phương án nhất định, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một gốc IL-2, và ít nhất hai gốc liên kết kháng nguyên. Các thể tiếp hợp miễn dịch cụ thể theo sáng chế về cơ bản bao gồm một gốc IL-2 và hai gốc liên kết kháng nguyên được nối bằng một hoặc nhiều các trình tự cầu nối. Gốc liên kết kháng nguyên có thể được nối với gốc IL-2 bằng các sự tương tác khác nhau và ở các dạng khác nhau theo sáng chế.

Theo sáng chế, thuật ngữ "gốc liên kết kháng nguyên đối chứng" đề cập đến gốc liên kết kháng nguyên khi nó tự do sử dụng gốc liên kết kháng nguyên khác và các gốc kích thích. Ví dụ, khi so sánh thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL2-Fab của sáng chế với gốc liên kết kháng nguyên đối chứng, gốc liên kết kháng nguyên đối chứng là Fab tự do, trong đó thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL2-Fab và phân tử Fab tự do có thể cùng gắn kết đặc hiệu với cùng sự xác định kháng nguyên.

Theo sáng chế, các thuật ngữ "thứ nhất" và "thứ hai" liên quan đến gốc liên kết kháng nguyên v.v.., được sử dụng để dễ dàng thể hiện sự khác biệt khi có nhiều hơn một trong số các loại gốc. Việc sử dụng các thuật ngữ này không nhằm bàn tới trình tự cụ thể hoặc sự định hướng của thể tiếp hợp miễn dịch trừ khi được chỉ định rõ ràng.

"Lượng hữu hiệu" của một tác nhân đề cập đến số lượng cần thiết để dẫn tới sự thay đổi sinh lý học trong tế bào hoặc mô mà chúng được cung cấp.

"Lượng điều trị hữu hiệu" của một tác nhân, ví dụ chế phẩm dược, đề cập đến lượng hữu hiệu, ở các liều và trong các giai đoạn thời gian cần thiết, để đạt được kết quả phòng bệnh hoặc điều trị mong muốn. Lượng điều trị hữu hiệu của

tác nhân ví dụ loại trừ, giảm, trì hoãn, giảm đến mức tối thiểu hoặc ngăn ngừa các tác động bất lợi của bệnh.

"Cá thể" hoặc "đối tượng" là động vật có vú. Các động vật có vú bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các động vật nuôi (ví dụ, bò, cừu, mèo, chó, và ngựa), các động vật linh trưởng (ví dụ, người và các động vật linh trưởng không phải người như khỉ), thỏ, và các loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và các loài chuột). Tốt hơn là, cá thể hoặc đối tượng là người.

Thuật ngữ "chế phẩm dược" đề cập đến việc điều chế ở dạng này khi cho phép hoạt hóa sinh học thành phần hoạt tính được chứa trong đó có hiệu quả, và không chứa các thành phần bổ sung mà là chất độc không thể chấp nhận với đối tượng cho chế phẩm cần được cung cấp.

"Chất mang dược dụng" đề cập đến thành phần trong chế phẩm dược, ngoài thành phần hoạt tính, mà không độc đối với đối tượng. Chất mang dược dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất đệm, tá dược, chất ổn định, hoặc chất bảo quản.

Theo sáng chế, "điều trị" (và các biến thể đúng ngữ pháp của chúng như "quá trình điều trị" hoặc "sự điều trị") đề cập đến sự can thiệp lâm sàng để cố gắng thay đổi tiến trình tự nhiên của bệnh ở cá thể cần được điều trị, và có thể là được thực hiện hoặc để phòng bệnh hoặc trong tiến trình giải quyết bệnh lý học lâm sàng. Các hiệu quả mong muốn của việc điều trị bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ngăn ngừa xảy ra hoặc tái phát bệnh, làm giảm các triệu chứng, giảm bớt hậu quả bất hợp lý trực tiếp hoặc gián tiếp bất kỳ của bệnh, ngăn ngừa sự di căn, giảm tốc độ tiến triển bệnh, sự cải thiện hoặc giảm nhẹ tình trạng bệnh, và làm dịu bớt hoặc tiên lượng cải thiện. Trong một vài phương án, các kháng thể của sáng chế được sử dụng để trì hoãn sự phát triển bệnh hoặc để làm chậm sự tiến triển của bệnh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế hướng đến việc cung cấp polypeptit IL-2 đột biến có các đặc tính cải tiến để điều trị miễn dịch. Cụ thể là, sáng chế hướng đến việc loại bỏ các đặc

tính dược lý của IL-2 mà đóng góp cho độc tính, nhưng không cần cho hiệu quả của IL-2. Như đã thảo luận ở trên, các dạng khác của Thụ thể IL-2 bao gồm các đơn vị con khác và biểu hiện các ái lực khác đối với IL-2. Thụ thể IL-2 ái lực trung gian, bao gồm các đơn vị con thụ thể β và γ, được biểu hiện trên các tế bào kích thích tích cực không hoạt động và đủ để phát tín hiệu IL-2. Thụ thể IL-2 ái lực cao, còn bao gồm nhóm nhỏ α của thụ thể, chủ yếu được biểu hiện trên các tế bào điều tiết T (T_{reg}) cũng như trên các tế bào kích thích hoạt tính trong đó trạng thái được kích hoạt của chúng bởi IL-2 có thể đẩy mạnh sự ức chế miễn dịch trung gian tế bào T_{reg} hoặc sự hoạt hóa-gây ra chết tế bào (AICD), tương ứng. Do đó, không có hy vọng để được được gắn kết bởi giả định, việc giảm hoặc hủy bỏ ái lực của IL-2 với nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2 nên làm giảm IL-2 gây ra sự điều chỉnh giảm về chức năng tế bào kích thích bởi các tế bào T điều tiết và sự phát triển của sự chịu đựng thuốc khối u bởi quy trình của AICD. Mặt khác, việc duy trì ái lực với thụ thể IL-2 ái lực trung gian nên bảo tồn sự kích thích của sự tăng sinh và sự hoạt hóa của các tế bào kích thích như NK và các tế bào T bởi IL-2.

Một vài đột biến IL-2 đã tồn tại trong lĩnh vực kỹ thuật, tuy nhiên, các tác giả đã phát hiện sự biến đổi các axit amin mới của IL-2 polypeptit và các sự kết hợp của chúng mà cụ thể là phù hợp để trao cho IL-2 các đặc tính mong để điều trị miễn dịch.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế cung cấp polypeptit interleukin-2 (IL-2) đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian mỗi trong số đó khi so sánh với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên.

Các đột biến của IL-2 người (hIL-2) vớih ái lực giảm với CD25 ví dụ, có thể được tạo ra bởi sự thay thế axit amin ở vị trí axit amin 35, 38, 42, 43, 45 hoặc 72 hoặc các sự kết hợp của chúng. Các axit amin thay thế làm mẫu bao gồm K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y,

R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R và L72K. Các đột biến IL-2 cụ thể theo sáng chế bao gồm sự biến đổi ở vị trí axit amin tương ứng với gốc 42, 45, hoặc 72 của IL-2 người, hoặc sự kết hợp của chúng. Các đột biến này biểu hiện ái lực gắn kết về cơ bản tương tự với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, và có ái lực về cơ bản giảm với nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2 và thụ thể IL-2 ái lực cao khi so với dạng tự nhiên của IL-2 đột biến.

Các đặc điểm khác của các đột biến hữu ích có thể bao gồm khả năng để gây ra sự tăng sinh của thụ thể IL-2-mang các tế bào T và/hoặc NK, khả năng để gây ra tín hiệu IL-2 trong thụ thể IL-2-mang các tế bào T và/hoặc NK, khả năng tạo ra interferon (IFN)-γ như xytokin thứ cấp bởi các tế bào NK, khả năng giảm để gây ra sự phát sinh của các xytokin thứ cấp, cụ thể là IL-10 và TNF-α, bởi các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), khả năng giảm để hoạt hóa các tế bào T điều tiết, khả năng giảm để gây ra sự tự sát của tế bào trong các tế bào T, và tiểu sử độc tính giảm *in vivo*.

Theo một phương án theo sáng chế, sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian là ở vị trí tương ứng với gốc 72 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin. Theo một phương án, sự thay thế axit amin này được chọn từ nhóm bao gồm L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo một phương án cụ thể hơn, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin L72G.

Theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế cung cấp polypeptit IL-2 đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ nhất này là ở vị trí tương ứng với gốc 72 của IL-2

người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ nhất này là sự thay thế axit amin. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ nhất này là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R và L72K. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự thay thế axit amin này là L72G. Sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí khác ngoài sự biến đổi axit amin thứ nhất này. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí được chọn từ vị trí tương ứng với gốc 35, 38, 42, 43 và 45 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin. Theo một phương án cụ thể, sự thay thế axit amin này là được chọn từ nhóm bao gồm K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí tương ứng với gốc 42 hoặc 45 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin, được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể hơn, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin F42A hoặc Y45A. Theo một phương án cụ thể hơn, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí tương ứng với gốc 42 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin, được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, và F42K. Theo một phương án cụ thể hơn, sự thay thế axit amin này là F42A. Theo một phương án khác, sự biến đổi axit amin thứ hai này là ở vị trí tương ứng với gốc 45 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin thứ hai này là sự thay thế axit amin, được chọn từ nhóm bao gồm Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể hơn, sự thay thế axit amin này là Y45A. Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến bao gồm sự biến đổi axit amin thứ ba hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của

thụ thể IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, mỗi trong số đó khi so sánh với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Sự biến đổi axit amin thứ ba này là ở vị trí khác ngoài các sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai này. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ ba này là ở vị trí được chọn từ vị trí tương ứng với gốc 35, 38, 42, 43 và 45 của IL-2 người. Theo một phương án ưu tiên, sự biến đổi axit amin thứ ba này là ở vị trí tương ứng với gốc 42 hoặc 45 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ ba này là ở vị trí tương ứng với gốc 42 của IL-2 người. Theo một phương án khác, sự biến đổi axit amin thứ ba này là ở vị trí tương ứng với gốc 45 của IL-2 người. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin thứ ba này là sự thay thế axit amin. Theo một phương án cụ thể, sự thay thế axit amin này được chọn từ nhóm bao gồm K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể hơn, sự thay thế axit amin này được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự thay thế axit amin này là F42A hoặc Y45A. Theo một phương án, sự thay thế axit amin này là F42A. Theo một phương án khác, sự thay thế axit amin này là Y45A. Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến không bao gồm sự biến đổi axit amin ở vị trí tương ứng với gốc 38 của IL-2 người.

Theo một khía cạnh cụ thể hơn nữa của sáng chế là cung cấp polypeptit IL-2 đột biến bao gồm ba sự biến đổi axit amin hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 nhưng bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với Thụ thể IL-2 ái lực trung gian. Theo phương án này, ba sự biến đổi axit amin là ở các vị trí tương ứng với gốc 42, 45 và 72 của IL-2 người. Theo phương án này, ba sự biến đổi axit amin là sự thay thế các axit amin. Theo phương án này, ba sự biến đổi axit amin là sự thay thế các axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N,

F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo một phương án cụ thể ba sự biến đổi các axit amin này là sự thay thế các axit amin F42A, Y45A và L72G.

Theo các phương án nhất định, sự biến đổi axit amin này làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 bởi ít nhất 5-lần, đặc biệt là ít nhất 10-lần, đặc biệt hơna là ít nhất 25-lần. Trong các phương án khi có nhiều hơn một sự biến đổi axit amin mà làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2, sự kết hợp của sự biến đổi các axit amin này có thể làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 bởi ít nhất 30-lần, ít nhất 50-lần, hoặc thậm chí ít nhất 100-lần. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin hoặc sự kết hợp này của sự biến đổi các axit amin hủy bỏ ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 để không gắn kết là có thể phát hiện ra bởi sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt như được mô tả dưới đây.

Về cơ bản, sự gắn kết tương tự với thụ thể ái lực trung gian, tức là sự bảo tồn của ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể này, đạt được khi IL-2 đột biến biểu hiện lớn hơn khoảng 70% của ái lực của dạng tự nhiên của IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian. Các đột biến IL-2 của sáng chế có thể biểu hiện lớn hơn khoảng 80% và thậm chí lớn hơn khoảng 90% ái lực này.

Các tác giả đã phát hiện ra rằng sự giảm bớt ái lực của IL-2 đối với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 kết hợp với sự loại bỏ của O-glycosyl hóa của IL-2 dẫn tới IL-2 protein với các đặc tính cải tiến. Ví dụ, sự loại bỏ của vị trí O-glycosyl hóa dẫn tới sản phẩm đồng nhất hơn khi polypeptit IL-2 đột biến được biểu hiện ở các tế bào động vật có vú như các tế bào CHO hoặc HEK.

Do đó, theo các phương án nhất định polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế bao gồm sự biến đổi axit amin bổ sung trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người. Theo phương án này, sự biến đổi axit amin bổ sung trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị

trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người là sự thay thế axit amin. Sự thay thế các axit amin mẫu bao gồm T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K, và T3P. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin bổ sung này là sự thay thế axit amin T3A.

Theo các phương án nhất định polypeptit IL-2 đột biến về cơ bản là toàn bộ độ dài phân tử IL-2. Theo các phương án nhất định polypeptit IL-2 đột biến là phân tử IL-2 người. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 với ít nhất một sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 nhưng bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với polypeptit IL-2 bao gồm SEQ ID NO: 1 không có sự biến đổi này. Theo một phương án khác, polypeptit IL-2 đột biến bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3 với ít nhất một sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của thụ thể IL-2 nhưng bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với Thụ thể IL-2 ái lực trung gian, khi so với polypeptit IL-2 bao gồm SEQ ID NO: 3 không có sự biến đổi này.

Theo một phương án cụ thể, polypeptit IL-2 đột biến có thể gây ra một hoặc nhiều sự đáp ứng tế bào được chọn từ nhóm bao gồm: sự tăng sinh trong tế bào T limphô bào hoạt hóa, sự phân biệt trong tế bào T limphô bào hoạt hóa, hoạt hóa tế bào T gây hại tế bào (CTL), sự tăng sinh trong tế bào B hoạt hóa, sự phân biệt in trong tế bào B hoạt hóa, sự tăng sinh trong tế bào chết tự nhiên (NK), sự phân biệt trong tế bào NK, sự bài tiết xytokin bởi tế bào T hoặc tế bào NK hoạt hóa, và khả năng gây hại tế bào kháng khối u chết tự nhiên hoạt hóa NK/limphô bào (LAK).

Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến có khả năng giảm để gây ra tín hiệu IL-2 trong các tế bào T điều tiết, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến gây ra sự hoạt hóa -gây ra chết tế bào giảm (AICD) trong các tế bào T, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự

nhiên. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến có tiểu sử độc tính giảm *in vivo*, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến có chu kỳ bán thải huyết thanh được kéo dài, khi so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên.

Polypeptit IL-2 đột biến cụ thể theo sáng chế bao gồm bốn sự thay thế axit amin ở các vị trí tương ứng với các gốc 3, 42, 45 và 72 của IL-2 người. Sự thay thế các axit amin cụ thể là T3A, F42A, Y45A và L72G. Như được chứng minh trong các Ví dụ kèm theo, polypeptit IL-2 đột biến bội bốn này biểu hiện sự gắn kết không thể phát hiện với CD25, khả năng giảm để gây ra sự tự sát của tế bào trong các tế bào T, khả năng giảm để gây ra tín hiệu IL-2 trong các tế bào T_{reg}, và tiểu sử độc tính giảm *in vivo*. Tuy nhiên, nó duy trì khả năng để hoạt hóa tín hiệu IL-2 trong các tế bào kích thích, để gây ra sự tăng sinh của các tế bào kích thích, và để tạo ra IFN-γ như xytokin thứ cấp bởi các tế bào NK.

Hơn nữa, polypeptit IL-2 đột biến này còn có các đặc tính thuận lợi, như tính kỵ nước bề mặt giảm, tính ổn định tốt, và hiệu suất biểu hiện tốt, như được mô tả trong các Ví dụ. Bất ngờ, polypeptit IL-2 đột biến này cũng cung cấp được chu kỳ bán thải huyết thanh kéo dài, khi so với IL-2 dạng tự nhiên.

Các đột biến IL-2 của sáng chế, ngoài ra để có các sự biến đổi trong vùng của IL-2 tạo thành mặt phân giới của IL-2 với vị trí CD25 hoặc glycosyl hóa, cũng có thể có một hoặc nhiều sự biến đổi trong trình tự axit amin bên ngoài các vùng này. Các sự biến đổi bổ sung này trong IL-2 người có thể cung cấp các thuận lợi bổ sung như biểu hiện hoặc tính ổn định tăng. Ví dụ, xystein ở vị trí 125 có thể được thay thế bằng axit amin trung tính như serin, alanin, threonin hoặc valin, C125S IL-2, C125A IL-2, C125T IL-2 hoặc C125V IL-2 sinh ra tương ứng, như được mô tả trong US 4,518,584. Như được mô tả tở đây, chúng cũng có thể loại bỏ gốc alanin đầu N của IL-2 sinh ra như các đột biến des-A1 C125S hoặc des-A1 C125A. Ngoài ra hoặc về phương diện kết hợp, IL-2 đột biến có thể bao gồm sự biến đổi nhờ đó methionin thường xảy ra ở vị trí 104 của IL-2 dạng tự nhiên người được thay thế bằng axit amin trung tính như alanin

(xem US 5,206,344). Các đột biến tạo ra, ví dụ, des-A1 M104A IL-2, des-A1 M104A C125S IL-2, M104A IL-2, M104A C125A IL-2, des-A1 M104A C125A IL-2, hoặc M104A C125S IL-2 (các đột biến này và các đột biến khác có thể tìm thấy trong US 5,116,943 và trong Weiger et al., Eur J Biochem 180, 295-300 (1989)) có thể được sử dụng kết hợp với các biến đổi IL-2 cụ thể của sáng chế.

Do đó, theo các phương án nhất định polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế bao gồm sự biến đổi axit amin bổ sung ở vị trí tương ứng với gốc 125 của IL-2 người. Theo phương án này, sự biến đổi axit amin bổ sung là sự thay thế axit amin C125A.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có khả năng xác định các sự biến đổi bổ sung có thể cung cấp các lợi ích bổ sung phù hợp với mục đích của sáng chế. Ví dụ, họ sẽ hiểu rõ rằng sự biến đổi các axit amin trong trình tự IL-2 mà làm giảm hoặc hủy bỏ ái lực của IL-2 với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, như D20T, N88R hoặc Q126D (xem, ví dụ US 2007/0036752), có thể không phù hợp để bao gồm trong polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế.

Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 15, và SEQ ID NO: 19. Theo một phương án cụ thể polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 19. Theo một phương án cụ thể hơn nữa polypeptit IL-2 đột biến bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19.

Các polypeptit interleukin-2 đột biến của sáng chế là rất hữu ích trong thành phần của các protein hợp nhất IL-2 như IL-2 mang các thể tiếp hợp miễn dịch. Các protein hợp nhất này bao gồm polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế được hợp nhất với một gốc không IL-2. Gốc không IL-2 có thể là protein tự nhiên hoặc tổng hợp hoặc một phần hoặc biến thể của chúng. Các gốc non-IL-2 làm mẫu bao gồm albumin, hoặc các miền kháng thể như các miền Fc hoặc các miền gắn kết kháng nguyên của các globulin miễn dịch.

IL-2 mang các thể tiếp hợp miễn dịch là các protein hợp nhất bao gồm gốc liên kết kháng nguyên và gốc IL-2. Chúng tăng một cách đáng kể hiệu quả của sự điều trị IL-2 bởi việc hướng đích trực tiếp IL-2 ví dụ trong vi môi trường khối u. Theo sáng chế, gốc liên kết kháng nguyên có thể là toàn bộ kháng thể hoặc globulin miễn dịch, hoặc một phần hoặc biến thể của chúng có chức năng sinh học như ái lực gắn kết đặc trưng kháng nguyên.

Các lợi ích của sự điều trị thể tiếp hợp miễn dịch là rất rõ ràng. Ví dụ, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch nhận biết epitop đặc trưng khối u và dẫn tới tạo đích của thể tiếp hợp miễn dịch phân tử đến vị trí khối u. Do đó, nồng độ cao của IL-2 có thể được phân phối trong vi môi trường khối u, nhờ đó dẫn tới sự hoạt hóa và sự tăng sinh của nhiều tế bào kích thích miễn dịch được đề cập ở đây nhờ sử dụng nhiều liều của thể tiếp hợp miễn dịch thấp hơn sẽ được yêu cầu đối với IL-2 không được tiếp hợp. Hơn nữa, do sự áp dụng của IL-2 ở dạng các thể tiếp hợp miễn dịch cho phép các liều thấp hơn của chính xytokin, là tiềm tàng về các tác dụng phụ không mong muốn của IL-2 được ngăn chặn, và hướng đích IL-2 đến vị trí cụ thể trong cơ thể bằng cách của thể tiếp hợp miễn dịch cũng có thể dẫn tới việc làm giảm sự lộc lộ cơ thể nói chung và do đó các tác dụng phụ giảm hơn đã thu được với IL-2 không được tiếp hợp. Ngoài ra, chu kỳ bán thải tuần hoàn tăng của thể tiếp hợp miễn dịch khi so với IL-2 không được tiếp hợp đóng góp vào hiệu quả của thể tiếp hợp miễn dịch. Tuy nhiên, đặc điểm này của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 có thể chống lại các tác dụng phụ tiềm tàng khả năng làm xấu thêm của phân tử IL-2: Vì chu kỳ bán thải tuần hoàn dài hơn đáng kể của thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 trong dòng máu liên quan đến IL-2 không được tiếp hợp, khả năng xảy ra đối với IL-2 hoặc các phần khác của phân tử protein hợp nhất để hoạt hóa các thành phần nhìn chung có mặt trong hệ mạch được tăng. Các phần có liên quan áp dụng cho các protein hợp nhất khác có chứa IL-2 được hợp nhất với gốc khác như Fc hoặc albumin, dẫn tới chu kỳ bán thải kéo dài của IL-2 trong hệ tuần hoàn. Do đó, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế, có độc tính giảm khi so với các dạng tự nhiên của IL-2, cụ thể là IL-2 có lợi.

Như vậy, sáng chế còn cung cấp polypeptit IL-2 đột biến như được mô tả trước đây, được liên kết với ít nhất một gốc không IL-2. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến và gốc không IL-2 tạo thành protein hợp nhất, tức là polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit với gốc không IL-2. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với gốc không IL-2 thứ nhất và thứ hai. Theo một phương án polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất, và gốc liên kết kháng nguyên thứ hai chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với hoặc i) polypeptit IL-2 đột biến hoặc ii) gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất. Theo một phương án cụ thể polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với gốc không IL-2 thứ nhất này và liên kết peptit đầu amino với gốc không IL-2 thứ hai này. Theo phương án này, gốc không IL-2 là gốc đích. Theo một phương án cụ thể gốc không IL-2 này là gốc liên kết kháng nguyên (do đó tạo thành thể tiếp hợp miễn dịch với polypeptit IL-2 đột biến, như được mô tả chi tiết dưới đây). Theo các phương án nhất định gốc liên kết kháng nguyên là kháng thể hoặc phần kháng thể. Theo một phương án gốc liên kết kháng nguyên là toàn bộ độ dài kháng thể. Theo một phương án gốc liên kết kháng nguyên là phân tử globulin miễn dịch, cụ thể là phân tử globulin miễn dịch lớp IgG, cụ thể hơn là phân tử globulin miễn dịch lớp phụ IgG_1. Theo phương án này, polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu amino với một trong các chuỗi nặng globulin miễn dịch. Theo một phương án khác gốc liên kết kháng nguyên là phần kháng thể. Theo một vài phương án gốc liên kết kháng nguyên này bao gồm miền gắn kết kháng nguyên của kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể. Theo một phương án cụ thể hơn gốc liên kết kháng nguyên là phân tử Fab hoặc phân tử scFv. Theo một phương án cụ thể gốc liên kết kháng nguyên là phân tử Fab. Theo một phương án khác gốc liên kết kháng nguyên là phân tử scFv. Theo một phương án gốc liên kết kháng nguyên này hướng đích đến kháng nguyên có mặt trên tế bào khối u hoặc trong điều kiện tế bào khối u. Theo một phương án ưu tiên kháng nguyên này được chọn từ nhóm bao gồm Protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), miền

A1 của Tenasxin-C (TNC A1), miền A2 của Tenasxin-C (TNC A2), miền B phụ của Fibronectin (EDB), kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và khối u ác tính kết hợp Chondroitin Sulfat Proteoglycan (MCSP). Trong đó, polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với nhiều hơn một gốc liên kết kháng nguyên, ví dụ gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai, mỗi gốc liên kết kháng nguyên có thể được chọn độc lập từ các dạng khác của các kháng thể và phần kháng thể. Ví dụ, gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất có thể là phân tử Fab và gốc liên kết kháng nguyên thứ hai có thể là phân tử scFv. Theo một phương án cụ thể mỗi trong số gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này là phân tử scFv hoặc mỗi trong số gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này là phân tử Fab. Theo một phương án cụ thể mỗi trong số gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này là phân tử Fab. Tương tự, trong đó polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với nhiều hơn một gốc liên kết kháng nguyên, ví dụ gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai, kháng nguyên trong đó mỗi gốc liên kết kháng nguyên hướng đích có thể được chọn độc lập. Theo phương án này, gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này hướng đích to đến các kháng nguyên khác nhau. Theo một phương án khác gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này hướng đích đến cùng kháng nguyên. Như được mô tả ở trên, kháng nguyên cụ thể là kháng nguyên có mặt trên tế bào khối u hoặc trong điều kiện tế bào khối u, cụ thể hơn là kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm Protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), miền A1 của Tenasxin-C (TNC A1), miền A2 của Tenasxin-C (TNC A2), miền B phụ của Fibronectin (EDB), kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và khối u ác tính kết hợp Chondroitin Sulfat Proteoglycan (MCSP). Vùng gắn kết kháng nguyên còn có thể kết hợp bất kỳ trong số các đặc tính, riêng rẽ hoặc kết hợp, được mô tả ở đây liên quan đến các miền gắn kết kháng nguyên của các thể tiếp hợp miễn dịch.

Các thể tiếp hợp miễn dịch

Theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế cung cấp thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit IL-2 đột biến bao gồm một hoặc nhiều sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của

Thụ thể IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, và ít nhất một gốc liên kết kháng nguyên. Theo một phương án theo sáng chế, sự biến đổi axit amin mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian là ở vị trí được chọn từ vị trí tương ứng với gốc 42, 45 và 72 của IL-2 người. Theo một phương án sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K, cụ thể là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, Y45A và L72G. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin là ở vị trí tương ứng với gốc 42 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, và F42. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự thay thế axit amin này là F42A. Theo một phương án khác, sự biến đổi axit amin là ở vị trí tương ứng với gốc 45 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, và Y45K. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự thay thế axit amin này là Y45A. Theo phương án khác nữa, sự biến đổi axit amin là ở vị trí tương ứng với gốc 72 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, sự biến đổi axit amin này là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, sự thay thế axit amin này là L72G. Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế không bao gồm sự biến đổi axit amin ở vị trí tương ứng với gốc 38 của IL-2 người. Theo một phương án cụ thể, polypeptit IL-2 đột biến được bao gồm trong thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm ít nhất sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai mà hủy bỏ hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với nhóm nhỏ α của Thụ thể

IL-2 và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian. Theo phương án này, các sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai là ở hai vị trí được chọn từ các vị trí tương ứng với gốc 42, 45 và 72 của IL-2 người. Theo phương án này, các sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai là sự thay thế các axit amin. Theo phương án này, các sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai là sự thay thế các axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R, và L72K. Theo phương án cụ thể này, các sự biến đổi axit amin thứ nhất và thứ hai là sự thay thế các axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, Y45A và L72G. polypeptit IL-2 đột biến có thể còn kết hợp các đặc tính bất kỳ, riêng rẽ hoặc kết hợp, được mô tả trong các đoạn trước liên quan đến các polypeptit interleukin-2 đột biến của sáng chế. Theo một phương án, polypeptit IL-2 đột biến này chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên này được bao gồm trong thể tiếp hợp miễn dịch, tức là thể tiếp hợp miễn dịch là protein hợp nhất. Theo các phương án nhất định, gốc liên kết kháng nguyên này là kháng thể hoặc phần kháng thể. Trong một vài phương án, gốc liên kết kháng nguyên này bao gồm miền gắn kết kháng nguyên của kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể. Vùng gắn kết kháng nguyên có thể kết hợp các đặc tính bất kỳ, riêng rẽ hoặc kết hợp, được mô tả trên đây hoặc dưới đây liên quan đến các miền gắn kết kháng nguyên.

Các định dạng thể tiếp hợp miễn dịch

Cụ thể là, các dạng thức thể tiếp hợp miễn dịch phù hợp được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 2011/020783, mà được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Các thể tiếp hợp miễn dịch này bao gồm ít nhất hai miền gắn kết kháng nguyên. Do đó, theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế bao gồm ít nhất một polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất theo sáng chế, và ít nhất một gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai. Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai này được chọn độc lập từ nhóm

bao gồm một phân tử Fv, cụ thể là phân tử scFv, và phân tử Fab. Theo một phương án cụ thể, polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất này chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất này và gốc liên kết kháng nguyên thứ hai này chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với hoặc i) polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất hoặc ii) gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất. Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch về cơ bản bao gồm polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất và gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai, được nối bằng một hoặc nhiều các trình tự cầu nối. Các dạng này có thuận lợi rằng chúng gắn kết với ái lực cao với kháng nguyên đích (như kháng nguyên khối u), mà chỉ sự gắn kết monome với thụ thể IL-2, do đó ngăn ngừa thể tiếp hợp miễn dịchđích với Thụ thể IL-2 mang các tế bào miễn dịch ở các khu vực khác ngoài vị trí đích. Theo một phương án cụ thể, polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với gốc liên kết kháng nguyên thứ hai. Theo một phương án khác, gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất, và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với gốc liên kết kháng nguyên thứ hai. Theo một phương án khác, gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu amino với polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất, và còn chia đều cacboxy-tận cùng peptit với gốc liên kết kháng nguyên thứ hai. Theo một phương án cụ thể, polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với thứ hai chuỗi nặng vùng biến đổi. Theo một phương án khác polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai. Theo một phương án khác, vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng thứ nhất được nối bằng liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất và còn được nối bằng liên kết peptit đầu amino với vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng thứ hai. Theo một phương án khác, vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng thứ nhất được nối bằng liên kết peptit đầu amino với polypeptit IL-2

đột biến thứ nhất và còn được nối bằng liên kết peptit đầu cacboxyl với vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng thứ hai. Theo một phương án, polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ hai. Theo một phương án khác, chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu amino với chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ hai. Theo các phương án khác, chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu amino với polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất và còn chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng Fab thứ hai. Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất phân chia liên kết peptit đầu amino với một hoặc nhiều phân tử scFv và còn phân chia liên kết peptit đầu cacboxyl với một hoặc nhiều phân tử scFv.

Cụ thể là, các dạng thể tiếp hợp miễn dịch phù hợp khác bao gồm phân tử globulin miễn dịch như gốc liên kết kháng nguyên. Theo phương án này, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế và phân tử globulin miễn dịch, cụ thể là phân tử gIgG, cụ thể hơn là phân tử IgG_1. Theo một phương án thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm không nhiều hơn một polypeptit IL-2 đột biến. Theo một phương án phân tử globulin miễn dịch là người. Theo một phương án, polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với phân tử globulin miễn dịch. Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch về cơ bản gồm có polypeptit IL-2 đột biến và phân tử globulin miễn dịch, cụ thể là phân tử gIgG, cụ thể hơn là phân tử IgG_1, được nối bởi một hoặc nhiều cầu nối trình tự. Theo một phương án cụ thể polypeptit IL-2 đột biến được nối ở axit amin đầu amino- của chúng với axit amin đầu cacboxyl- của một trong các chuỗi nặng globulin miễn dịch. Theo các phương án nhất định, phân tử globulin miễn dịch bao gồm trong miền Fc đẩy mạnh cải biến sự dị dime hóa của hai chuỗi nặng globulin miễn dịch không đồng nhất. Vị trí của sự tương tác protein-protein rộng nhất giữa hai chuỗi polypeptit của miền IgG Fc người là trong miền CH3 của miền Fc. Do đó, theo phương án này, sự cải biến là

trong miền CH3 của miền Fc. Theo một phương án cụ thể, sự cải biến này là cải biến chìa khóa-trong-lỗ khóa, bao gồm cải biến chìa khóa trong một trong các chuỗi nặng globulin miễn dịch và cải biến lỗ khóa trong một trong các chuỗi nặng globulin miễn dịch khác. Kỹ thuật chìa khóa-trong-lỗ khóa được mô tả ví dụ trong US 5,731,168; US 7,695,936; Ridgway et al., Prot Eng 9, 617-621 (1996) và Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001). Nhìn chung, phương pháp bao gồm việc đưa vào u sưng ("chìa khóa") ở mặt phân giới của polypeptit thứ nhất và ổ tương ứng ("lỗ khóa") trong mặt phân giới của polypeptit thứ hai, do đó u sưng có thể được định vị trong ổ để đẩy mạnh sự tạo thành chất dị dime và sự tạo thành hợp chất dị dime ngăn cản. Các u sưng được cấu trúc bởi việc thay thế các chuỗi bên axit amin nhỏ từ mặt phân giới của polypeptit thứ nhất bằng các chuỗi bên lớn (ví dụ, tyrosin hoặc tryptophan). Các ổ bù của kích cỡ đồng nhất hoặc tương tự cho các u sưng được tạo thêm trong mặt phân giới của polypeptit thứ hai bởi việc thay thế các chuỗi bên axit amin lớn bằng các chuỗi bên nhỏ hơn (ví dụ, alanin hoặc threonin). U sưng và ổ có thể được tạo ra bởi thay thế axit nucleic mã hóa các polypeptit, ví dụ bởi quá trình đột biến đặc trưng vị trí, hoặc bởi sự tổng hợp peptit. Theo một phương án cụ thể, cải biến chìa khóa bao gồm sự thay thế axit amin T366W ở một trong hai chuỗi nặng globulin miễn dịch, và cải biến lỗ khóa bao gồm sự thay thế các axit amin T366S, L368A và Y407V trong một trong hai chuỗi nặng globulin miễn dịch khác. Theo một phương án cụ thể nữa, chuỗi nặng globulin miễn dịch bao gồm cải biến chìa khóa bổ sung bao gồm sự thay thế axit amin S354C, và chuỗi nặng globulin miễn dịch bao gồm cải biến lỗ khóa bổ sung bao gồm sự thay thế axit amin Y349C. Việc đưa vào của hai gốc xystein này dẫn tới sự hình thành của cầu nối disulfit giữa hai chuỗi nặng, còn tạo sự ổn định hợp chất dime (Carter, J Immunol Method 248, 7-15 (2001)).

Theo một phương án cụ thể polypeptit IL-2 đột biến được nối với axit amin đầu cacboxyl- của chuỗi nặng globulin miễn dịch bao gồm cải biến chìa khóa.

Theo một phương án cải biến, cải biến đẩy mạnh sự dị dime hóa của hai chuỗi polypeptit không đồng nhất bao gồm các tác động lái tĩnh điện trung gian,

ví dụ như được mô tả trong WO 2009/089004. Nhìn chung, phương pháp này bao gồm sự thay thế của một hoặc nhiều gốc axit amin ở mặt phân giới của hai chuỗi polypeptit bằng các gốc axit amin mang điện tích để sự tạo thành hợp chất dị dime trở nên bất lợi về tĩnh điện học nhưng sự dị dime hóa thuận lợi về tĩnh điện học.

Miền Fc đề cập đến thể tiếp hợp miễn dịch có các đặc tính dược động học thuận lợi, bao gồm chu kỳ bán thải huyết thanh dài đóng góp vào sự tích tụ thích hợp trong mô đích và tỷ lệ phân phối mô-máu thuận lợi. Ở cùng thời điểm nó có thể, tuy nhiên, dẫn tới việc hướng đích không mong muốn của thể tiếp hợp miễn dịch đến các thụ thể Fc biểu hiện tế bào hơn đến các tế bào mang kháng nguyên được ưu tiên. Hơn nữa, sự đồng hoạt hóa của chuỗi các phản ứng hóa sinh phát tín hiệu thụ thể Fc có thể dẫn tới sự giải phóng xytokin trong đó, kết hợp với polypeptit IL-2 và chu kỳ bán thải dài của thể tiếp hợp miễn dịch, dẫn tới sự hoạt hóa quá mức của các thụ thể xytokin và các tác dụng phụ nghiêm trọng trong khi cung cấp trong cơ thể. Theo cách này, các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 thông thường đã được mô tả để được kết hợp với các phản ứng hợp nhất chặt chẽ (xem, ví dụ King et al., J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)).

Như vậy, theo các phương án nhất định phân tử globulin miễn dịch được bao gồm trong thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế được sử dụng kỹ thuật di truyền học để thực hiện ái lực gắn kết giảm với thụ thể Fc. Theo phương án này globulin miễn dịch bao gồm trong miền Fc của chúng một hoặc nhiều sự biến đổi axit amin mà làm giảm ái lực gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch với thụ thể Fc. Cụ thể là, cùng một hoặc nhiều sự biến đổi axit amin có mặt trong mỗi trong hai chuỗi nặng globulin miễn dịch. Theo một phương án, sự biến đổi axit amin này làm giảm ái lực gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch với thụ thể Fc bởi ít nhất 2-lần, ít nhất 5-lần, hoặc ít nhất 10-lần. Trong các phương án khi có nhiều hơn một sự biến đổi axit amin mà làm giảm ái lực gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch với thụ thể Fc, sự kết hợp của sự biến đổi các axit amin này có thể làm giảm ái lực gắn kết của miền Fc với thụ thể Fc bởi ít nhất 10-lần, ít nhất 20-lần, hoặc thậm chí ít nhất 50-lần. Theo một phương án thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm kỹ

thuật di truyền học phân tử globulin miễn dịch được sử dụng biểu hiện ít hơn 20%, cụ thể là ít hơn 10%, cụ thể hơn là ít hơn 5% của ái lực gắn kết với thụ thể Fc như khi so với thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm kỹ thuật di truyền học phân tử globulin miễn dịch không được sử dụng. Theo một phương án thụ thể Fc là thụ thể Fc hoạt hóa. Theo một phương án cụ thể thụ thể Fc là thụ thể Fcγ, cụ thể hơn là thụ thể FcγRIIIa, FcγRI hoặc FcγRIIa. Tốt hơn là, sự gắn kết với mỗi thụ thể của chúng được giảm. Trong một vài phương án ái lực gắn kết với thành phần bổ sung, đặc biệt là ái lực gắn kết với C1q, cũng được giảm. Theo một phương án ái lực gắn kết với thụ thể Fc trẻ sơ sinh (FcRn) không được giảm. Về cơ bản sự gắn kết tương tự với FcRn, tức là sự bảo tồn của ái lực gắn kết của globulin miễn dịch với thụ thể này, đạt được khi globulin miễn dịch (hoặc thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm globulin miễn dịch này) biểu hiện lớn hơn khoảng 70% của ái lực gắn kết của dạng kỹ thuật di truyền học không được sử dụng của globulin miễn dịch (hoặc thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm dạng kỹ thuật di truyền học không được sử dụng này của globulin miễn dịch) với FcRn. Các globulin miễn dịch, hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm các globulin miễn dịch này, có thể biểu hiện lớn hơn khoảng 80% và thamạ chí lớn hơn khoảng 90% ái lực này. Theo một phương án sự biến đổi axit amin là sự thay thế axit amin. Theo một phương án globulin miễn dịch bao gồm sự thay thế axit amin ở vị trí P329 của chuỗi nặng globulin miễn dịch (đánh số Kabat). Theo một phương án cụ thể hơn sự thay thế axit amin là P329A hoặc P329G, cụ thể là P329G. Theo một phương án globulin miễn dịch còn bao gồm sự thay thế axit amin ở vị trí được chọn từ S228, E233, L234, L235, N297 và P331 của chuỗi nặng globulin miễn dịch. Theo một phương án cụ thể hơn nữa sự thay thế axit amin là S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D hoặc P331S. Theo một phương án cụ thể globulin miễn dịch bao gồm sự thay thế các axit amin ở các vị trí P329, L234 và L235 của chuỗi nặng globulin miễn dịch. Theo một phương án cụ thể hơn, globulin miễn dịch bao gồm sự biến đổi các axit amin L234A, L235A và P329G (LALA P329G). Sự kết hợp này của sự thay thế các axit amin hầu như hủy bỏ hoàn toàn sự gắn kết thụ thể Fcγ của phân tử gIgG người, và do đó làm giảm

chức năng phản ứng bao gồm sự gây hại tế bào trung gian tế bào T phụ thuộc kháng thể (ADCC).

Theo các phương án nhất định, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm một hoặc nhiều vị trí phân tách proteolytic được đặt giữa polypeptit IL-2 đột biến và gốc liên kết kháng nguyên.

Các thành phần của thể tiếp hợp miễn dịch (ví dụ, gốc liên kết kháng nguyên và/hoặc polypeptit IL-2 đột biến) có thể được liên kết điều khiển hoặc thông qua các cầu nối khác, cụ thể là các cầu nối peptit bao gồm một hoặc nhiều axit amin, cụ thể khoảng 2-20 axit amin, mà được mô tả ở đây hoặc đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Phù hợp, các peptit cầu nối không tạo miễn dịch bao gồm, ví dụ, các peptit cầu nối $(G4S)_n$, $(SG_4)_n$ hoặc $G_4(SG_4)_n$, trong đó n nhìn chung là một số giữa 1 và 10, cụ thể giữa 2 và 4.

Gốc liên kết kháng nguyên

Gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế nhìn chung là phân tử polypeptit gắn kết với sự xác định kháng nguyên cụ thể và có khả năng để điều khiển thực thể để chúng được gắn kèm (ví dụ, polypeptit IL-2 đột biến hoặc gốc liên kết kháng nguyên thứ hai) tới vị trí đích, ví dụ, tới loại cụ thể của tế bào khối u hoặc chất đệm khối u mang sự xác định kháng nguyên. Thể tiếp hợp miễn dịch có thể gắn kết với các kháng nguyên xác định đã tìm thấy, ví dụ, trên các bề mặt của các tế bào khối u, trên các bề mặt của các tế bào nhiễm virut, trên các bề mặt của các tế bào mang bệnh khác, trong huyết thanh máu tự do, và/hoặc trong thể mẹ ngoại bào (ECM).

Các ví dụ không giới hạn về các kháng nguyên khối u bao gồm MAGE, MART-1/Melan-A, gp100, Dipeptidyl peptidaza IV (DPPIV), sự gắn kết adenosin deaminaza- protein (ADAbp), cyclophilin b, kháng nguyên kết hợp ruột kết với trực tràng (CRC)-C017-1A/GA733, kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và các epitop tạo miễn dịch của chúng CAP-1 và CAP-2, etv6, aml1, kháng nguyên đặc trưng tiền liệt tuyến (PSA) và các epitop tạo miễn dịch của chúng PSA-1, PSA-2, và PSA-3, kháng nguyên màng đặc

trưng tiền liệt tuyến (PSMA), thụ thể tế bào T/chuỗi CD3-zeta, họ MAGE của các kháng nguyên khối u (ví dụ, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-Xp2 (MAGE-B2), MAGE-Xp3 (MAGE-B3), MAGE-Xp4 (MAGE-B4), MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), họ GAGE của các kháng nguyên khối u (ví dụ, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V, MUM-1, CDK4, tyrosinase, p53, họ MUC, HER2/neu, p21ras, RCAS1, α-fetoprotein, E-cadherin, α-catenin, β-catenin và γ-catenin, p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, adenomatous polyposis coli protein (APC), fodrin, Connexin 37, Ig-idiotype, p15, gp75, các lipit trong não GM2 và GD2, các sản phẩm như virut, như các protein virut u nhú người, họ Smad của các kháng nguyên khối u, lmp-1, P1A, kháng nguyên nhân được mã hóa EBV (EBNA)-1, glycogen não phosphorylaza, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 và CT-7, và c-erbB-2.

Các ví dụ không giới hạn về các kháng nguyên do virut gây ra bao gồm ngưng kết tố hồng cầu virut bệnh cúm, LMP-1 virut Epstein-Barr, glycoprotein virut E2 bệnh viêm gan C, HIV gp160, và HIV gp120.

Các ví dụ không giới hạn về các kháng nguyên ECM bao gồm syndecan, heparanaza, các integrin, osteopontin, cầu nối, các cadherin, laminin, EGF loại laminin, lectin, Fibronectin, vết khía hình V, tenasxin và matrixin.

Các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể gắn kết với các ví dụ cụ thể sau không giới hạn về các kháng nguyên bề mặt tế bào: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD2 (kháng nguyên bề mặt tế bào T), CD3 (heteromultimer được kết hợp với TCR), CD22 (thụ thể tế bào B), CD23 (thụ thể IgE ái lực thấp), CD30 (thụ thể xytokin), CD33 (kháng nguyên bề mặt tế bào tủy sống), CD40 (thụ thể nhân tố hoại tử khối u), IL-6R (thụ thể IL6), CD20, MCSP, và PDGFβR (thụ thể nhân tố sinh trưởng gốc tiểu cầu β).

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên, trong đó mỗi trong số các gốc liên kết kháng nguyên này gắn kết cụ thể với cùng sự xác định kháng nguyên. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên, trong đó mỗi trong số các gốc liên kết kháng nguyên này gắn kết cụ thể với các sự xác định kháng nguyên khác.

Gốc liên kết kháng nguyên có thể là loại kháng thể hoặc đoạn bất kỳ của chúng mà duy trì sự gắn kết đặc trưng với việc xác định kháng nguyên. Các phần kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đoạn V_H, các đoạn V_L, các đoạn Fab, các đoạn $F(ab')_2$, các đoạn scFv, các đoạn Fv, các minibodies, các diabodies, các triabodies, và các tetrabodies (xem ví dụ Hudson and Souriau, Nature Med 9, 129-134 (2003)).

Cụ thể là, gốc liên kết kháng nguyên phù hợp được mô tả trong WO 2011/020783, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên được đặc trưng về miền B phụ của Fibronectin (EDB). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên mà có thể cạnh tranh với kháng thể đơn dòng L19 để gắn kết với epitop của EDB. Xem, ví dụ, công bố đơn PCT số WO 2007/128563 A1 (được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19 chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nhẹ Fab thứ nhất có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19 chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ Fab thứ hai có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19. Theo một

phương án nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó scFv thứ nhất có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19 chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với scFv thứ hai có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19.

Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit nêu trong SEQ ID NO: 199 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm chuỗi nhẹ Fab có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng L19. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 199 và SEQ ID NO: 201 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, các polypeptit được liên kết cộng hóa trị, ví dụ, bằng liên kết disulfit.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm ít nhất một, hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên cụ thể đặc trưng về miền A1 của Tenasxin (TNC-A1). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên cụ thể mà có thể cạnh tranh với kháng thể đơn dòng F16 để gắn kết với epitop của TNC-A1. Xem, ví dụ, công bố đơn PCT số WO 2007/128563 A1 (được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên được đặc trưng về miền A1 và/hoặc A4 của Tenasxin (TNC-A1 hoặc TNC-A4 hoặc TNC-A1/A4). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về miền A1 của Tenasxin chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về miền A1 của

Tenasxin. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nhẹ Fab thứ nhất đặc trưng về miền A1 của Tenasxin chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ Fab thứ hai đặc trưng về miền A1 của Tenasxin. Theo một phương án nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó scFv thứ nhất đặc trưng về miền A1 của Tenasxin chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với scFv thứ hai đặc trưng về miền A1 của Tenasxin. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng globulin miễn dịch đặc trưng về TNC-A1 chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 33 hoặc SEQ ID NO: 35, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 29 hoặc SEQ ID NO: 31, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 33 hoặc SEQ ID NO: 35 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 29 hoặc SEQ ID NO: 31 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 34 hoặc SEQ ID NO: 36. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 34 hoặc SEQ ID NO: 36. Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 30 hoặc SEQ ID NO: 32. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 30 hoặc SEQ ID NO: 32.

Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 203 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 205 hoặc SEQ ID NO: 215, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 207 hoặc SEQ ID NO: 237 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 205 và SEQ ID NO: 207 hoặc các biến thể của chúng mà duy

trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 215 và SEQ ID NO: 237 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 204. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 204. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 206 hoặc SEQ ID NO: 216. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 206 hoặc SEQ ID NO: 216. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 208 hoặc SEQ ID NO: 238. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 208 hoặc SEQ ID NO: 238.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên cụ thể có đặc trưng về miền A2 của Tenasxin (TNC-A2). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về miền A2 của Tenasxin chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với IL polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về miền A2 của Tenasxin. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn

dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nhẹ Fab thứ nhất đặc trưng về miền A2 của Tenasxin chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ Fab thứ hai đặc trưng về miền A2 của Tenasxin. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng globulin miễn dịch đặc trưng về TNC-A2 chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 183 và SEQ ID NO: 187, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 181 và SEQ ID NO: 185, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 183 và SEQ ID NO: 187, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO: 169, SEQ

ID NO: 173, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 181 và SEQ ID NO: 185, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 184 và SEQ ID NO: 188. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 184 và SEQ ID NO: 188. Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 182 và SEQ ID NO: 186. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 182 và SEQ ID NO: 186.

Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 241, SEQ ID NO: 243 và SEQ ID NO: 245, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương

đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 249 và SEQ ID NO: 251, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 241, SEQ ID NO: 243, và SEQ ID NO: 245 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 249 và SEQ ID NO: 251 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 và hoặc SEQ ID NO: 249 hoặc SEQ ID NO: 251, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 243 và hoặc SEQ ID NO: 247 hoặc SEQ ID NO: 249, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 245 và SEQ ID NO: 247, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 242, SEQ ID NO: 244 và SEQ ID NO: 246. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm

trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 242, SEQ ID NO: 244 và SEQ ID NO: 246. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 250 và SEQ ID NO: 252. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 250 và SEQ ID NO: 252.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên đặc trưng về Protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về FAP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về FAP. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó a chuỗi nhẹ Fab thứ nhất đặc trưng về FAP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ Fab thứ hai đặc trưng về FAP. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng globulin miễn dịch đặc trưng về FAP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO:

115, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 151 và SEQ ID NO: 155, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 149 và SEQ ID NO: 153, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 151 và SEQ ID NO: 155, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 73,

SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 149 và SEQ ID NO: 153, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 41 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 39. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 51 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 49. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 111 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 109. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 143 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 141. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 151 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 149.

Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 152, và SEQ ID NO: 156. Theo

phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 152, và SEQ ID NO: 156. Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 150, và SEQ ID NO: 154. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 150 và SEQ ID NO: 154.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 227, và SEQ ID NO: 229, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 235 và SEQ ID NO: 239 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 211 hoặc SEQ ID NO: 219 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 233 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 227 và SEQ ID NO: 229, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 213 và SEQ ID NO: 235 hoặc các biến thể của chúng mà

duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 217 và SEQ ID NO: 239 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 219 và SEQ ID NO: 233 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 221 và SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 223 và SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 225 và SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 227 và SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 229 và SEQ ID NO: 231 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng

chế bao gồm hai trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 211 và SEQ ID NO: 233 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 297, SEQ ID NO: 301 và SEQ ID NO: 315, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 299, SEQ ID NO: 303 và SEQ ID NO: 317, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 297 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 299 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 233 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 303 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về

trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 231 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 315 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 317 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 233 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 228 và SEQ ID NO: 230. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 228, và SEQ ID NO: 230. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 236, và SEQ ID NO: 240. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 236, và SEQ ID NO: 240.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 302 và SEQ ID NO: 316. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 302 và SEQ ID NO: 316. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 304 và SEQ ID NO: 318. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 304 và SEQ ID NO: 318.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên đặc trưng về Proteoglycan Sulfat Chondroitin Khối u ác tính (MCSP). Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về MCSP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về MCSP. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nhẹ Fab thứ nhất đặc trưng về MCSP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với phân tử IL-2, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nhẹ Fab thứ hai đặc trưng về MCSP. Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng globulin miễn dịch đặc trưng về MCSP chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100%

so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 189 hoặc SEQ ID NO: 193 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 191 hoặc SEQ ID NO: 197 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 189 hoặc SEQ ID NO: 193, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 191 hoặc SEQ ID NO: 197, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 189, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 191. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 193, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 191.

Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%,

95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 190 hoặc SEQ ID NO: 194. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 190 hoặc SEQ ID NO: 194. Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 192 hoặc SEQ ID NO: 198. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 192 hoặc SEQ ID NO: 198.

Theo một phương án cụ thể, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 253 hoặc SEQ ID NO: 257, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 255 hoặc SEQ ID NO: 261, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 253 hoặc SEQ ID NO: 257 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 255 hoặc SEQ ID NO: 261, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%,

90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 253 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 255 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 257 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 255 hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 254 hoặc SEQ ID NO: 258. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 254 hoặc SEQ ID NO: 258. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong hoặc SEQ ID NO: 256 hoặc SEQ ID NO: 262. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit của hoặc SEQ ID NO: 256 hoặc SEQ ID NO: 262.

Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một, cụ thể là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên đặc trưng về Kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA).

Theo một phương án khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về CEA chia đều liên kết

peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về CEA. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng Fab thứ nhất đặc trưng về CEA chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến, trong đó lần lượt chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với chuỗi nặng Fab thứ hai đặc trưng về CEA. Theo một phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit trong đó chuỗi nặng globulin miễn dịch đặc trưng về CEA chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl với polypeptit IL-2 đột biến. Theo một phương án cụ thể, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 313 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án cụ thể khác, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 311 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 313, hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 311, hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 314. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của gốc liên kết

kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 314. Theo phương án cụ thể khác, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 312. Theo phương án khác nữa, trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên của thể tiếp hợp miễn dịch được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 312.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 319, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 321, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 323, hoặc các biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng. Theo một phương án cụ thể hơn, thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 319 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 321 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 323 hoặc biến thể của chúng mà duy trì về mặt chức năng.

Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 320. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 320. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 322. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 322. Theo phương án cụ thể khác, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 324. Theo phương án khác nữa, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm trình tự polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit nêu trong SEQ ID NO: 324.

Gốc liên kết kháng nguyên của sáng chế bao gồm gốc liên kết kháng nguyên có các trình tự có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự nêu trong các trình tự peptit được thiết lập trong các SEQ ID NO: 23-261 (các số lẻ), 297-303 (các số lẻ), 311 và 313, bao gồm các đoạn chức hoặc các biến thể của chúng. Sáng chế cũng chứa gốc liên kết kháng nguyên bao gồm các trình tự nêu trong SEQ ID NO 23-261 (các số lẻ), 297-303 (các số lẻ), 311 và 313 với sự thay thế các axit amin bảo tồn.

Các polynucleotit

Sáng chế còn cung cấp các polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit IL-2 đột biến theo sáng chế.

Các polynucleotit của sáng chế bao gồm các polynucleotit có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 24-262 (các số chẵn), 293-296, và 298-324 (các số chẵn) bao gồm các đoạn chức hoặc các biến thể của chúng.

Các polynucleotit mã hóa các polypeptit interleukin-2 đột biến không được liên kết với gốc không IL-2 nhìn chung được biểu hiện như polynucleotit đơn mã hóa toàn bộ polypeptit.

Theo một phương án, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự IL-2 đột biến nêu trong SEQ ID NO: 7, 11, 15 hoặc 19. Sáng chế cũng chứa polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa polypeptit IL-2 đột biến nêu trong SEQ ID NO: 7, 11, 15 hoặc 19 với sự thay thế các axit amin bảo tồn.

Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 295 và SEQ ID NO: 296. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa polypeptit IL-2 đột biến, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 295 và SEQ ID NO: 296. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc

đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự axit nucleic có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 295 và SEQ ID NO: 296. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự axit nucleic được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 295 và SEQ ID NO: 296.

Các polynucleotit mã hóa các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được biểu hiện như một polynucleotit đơn mã hóa toàn bộ thể tiếp hợp miễn dịch hoặc như nhiều polynucleotit (ví dụ, hai hoặc nhiều hơn) mà được đồng biểu hiện. Các polypeptit được mã hóa bằng các polynucleotit mà được đồng biểu hiện có thể kết hợp thông qua, ví dụ, các liên kết disulfit hoặc các cách khác để tạo thành thể tiếp hợp miễn dịch chức. Ví dụ, phần chuỗi nặng của một gốc liên kết kháng nguyên có thể được mã hóa bằng polynucleotit riêng rẽ từ phần của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm phần chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên và polypeptit IL-2 đột biến. Khi được đồng biểu hiện, các chuỗi nặng polypeptit sẽ kết hợp với các chuỗi nhẹ polypeptit để tạo thành gốc liên kết kháng nguyên. Ngoài ra, theo ví dụ khác, phần chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên có thể được mã hóa bằng polynucleotit riêng rẽ từ phần của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm phần chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên và polypeptit IL-2 đột biến. Theo một phương án, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit IL-2 đột biến và gốc liên kết kháng nguyên. Theo một phương án, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên và

polypeptit IL-2 đột biến. Theo một phương án khác, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa chuỗi nhẹ của gốc liên kết kháng nguyên và polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án cụ thể, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một polypeptit IL-2 đột biến, và ít nhất một, tốt hơn là hai hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên, trong đó polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất và gốc liên kết kháng nguyên thứ hai chia đều liên kết peptit đầu cacboxyl hoặc amino- với hoặc polypeptit IL-2 đột biến thứ nhất hoặc gốc liên kết kháng nguyên thứ nhất. Theo một phương án, gốc liên kết kháng nguyên được chọn độc lập từ nhóm bao gồm phân tử Fv, cụ thể là phân tử scFv, và phân tử Fab. Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit mã hóa các chuỗi nặng của hai trong số gốc liên kết kháng nguyên và một polypeptit IL-2 đột biến. Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit mã hóa các chuỗi nhẹ của hai trong số gốc liên kết kháng nguyên và của polypeptit IL-2 đột biến. Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit mã hóa một chuỗi nhẹ của một trong số gốc liên kết kháng nguyên, một chuỗi nặng của gốc liên kết kháng nguyên thứ hai và một polypeptit IL-2 đột biến.

Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch, trong đó polynucleotit mã hóa các chuỗi nặng của hai phân tử Fab và polypeptit IL-2 đột biến. Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch, trong đó polynucleotit mã hóa các chuỗi nhẹ của hai phân tử Fab và polypeptit IL-2 đột biến. Theo phương án cụ thể khác, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch, trong đó polynucleotit mã hóa chuỗi nặng của một phân tử Fab, chuỗi nhẹ của phân tử Fab thứ hai và polypeptit IL-2 đột biến.

Theo một phương án, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm ít nhất một polypeptit IL-2 đột biến, được nối ở các

axit amin đầu amino- và cacboxy- của chúng với một hoặc nhiều các phân tử scFv.

Theo một phương án, polynucleotit được phân lập của sáng chế mã hóa một đoạn của thể tiếp hợp miễn dịch, trong đó polynucleotit mã hóa chuỗi nặng của phân tử globulin miễn dịch, cụ thể là phân tử gIgG, cụ thể hơn là phân tử IgG_1, và polypeptit IL-2 đột biến. Theo một phương án cụ thể hơn, polynucleotit được phân lập mã hóa chuỗi nặng của phân tử globulin miễn dịch và polypeptit IL-2 đột biến, trong đó polypeptit IL-2 đột biến chia đều liên kết peptit đầu amino với chuỗi nặng globulin miễn dịch.

Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự vùng biến đổi như được nêu trong SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 hoặc 313. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự polypeptit như được thể hiện ở SEQ ID NO: 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 hoặc 323. Theo một phương án khác, sáng chế còn hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128,

130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 298, 300, 302, 304, 312, 314, 316, 318, 320, 322 hoặc 324. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự axit nucleic được nêu trong SEQ ID NO: 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 298, 300, 302, 304, 312, 314, 316, 318, 320, 322 hoặc 324. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự vùng biến đổi có mức độ tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 hoặc 313. Theo một phương án khác, sáng chế hướng đích đến polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự polypeptit có ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% so với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233,

235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 hoặc 323. Sáng chế chứa polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa các trình tự vùng biến đổi nêu trong SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 hoặc 313 với sự thay thế các axit amin bảo tồn. Sáng chế cũng chứa polynucleotit được phân lập mã hóa thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế hoặc đoạn của chúng, trong đó polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa trình tự polypeptit nêu trong SEQ ID NO: 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 hoặc 323 với sự thay thế các axit amin bảo tồn.

Theo các phương án nhất định polynucleotit hoặc axit nucleic là ADN. Theo các phương án khác, polynucleotit của sáng chế là ARN, ví dụ, ở dạng ARN thông tin (mARN). ARN của sáng chế có thể được mắc đơn hoặc được mắc kép.

Các phương pháp tái tổ hợp

Các polypeptit interleukin-2 đột biến của sáng chế có thể được điều chế bằng sự loại bỏ, sự thay thế, chèn hoặc cải biến sử dụng các phương pháp gen hoặc hóa học đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các phương pháp gen có thể bao gồm đột biến quá trình vị trí cụ thể của trình tự ADN mã hóa, PCR, sự tổng hợp gen, và các đột biến tương tự. Các thay đổi nucleotit chính xác có thể được xác định ví dụ bằng sự sắp xếp trình tự. Về mặt này, trình tự nucleotit của IL-2 tự nhiên đã được mô tả bởi Taniguchi et al. (Nature 302, 305-10 (1983)) và axit nucleic mã hóa IL-2 người là có sẵn từ các thư viện chung như American Type

Culture Collection (Rockville MD). Trình tự của IL-2 tự nhiên người được nêu trong SEQ ID NO: 1. Sự thay thế hoặc chèn có thể bao gồm các gốc axit amin tự nhiên cũng như không tự nhiên. Sự cải biến axit amin bao gồm các phương pháp đã biết của sự cải biến hóa học như sự bổ sung của các vị trí glycosyl hóa hoặc sự gắn kèm cacbohydrat, và tương tự.

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể đã thu được, ví dụ, bằng sự sản xuất tổng hợp hoặc sự tái tổ hợp peptit trạng thái rắn. Đối với sự sản xuất tái tổ hợp một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa polypeptit IL-2 đột biến này hoặc thể tiếp hợp miễn dịch (đoạn), ví dụ, như được mô tả ở trên, được phân lập và được chèn vào một hoặc nhiều vectơ để còn nhân bản và/hoặc biểu hiện trong tế bào chủ. Polynucleotit này có thể dễ dàng được phân lập và được sắp xếp trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường. Theo một phương án vectơ, tốt hơn là vectơ biểu hiện, bao gồm một hoặc nhiều polynucleotit của sáng chế được cung cấp. Các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể được sử dụng để cấu trúc các vectơ biểu hiện có chứa trình tự mã hóa của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch (đoạn) cùng với các tín hiệu đối chứng sao chép/tịnh tiến thích hợp. Các phương pháp này bao gồm các kỹ thuật ADN tái tổ hợp *in vitro*, các kỹ thuật tổng hợp và sự tái kết hợp *in vivo*/sự tái kết hợp gen. Xem, ví dụ, các kỹ thuật được mô tả trong Maniatis et al., MOLECULAR NHÂN BẢN: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor LABORATORY, N.Y. (1989); và Ausubel et al., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y (1989). Vectơ biểu hiện có thể là một phần của plasmit, virut, hoặc có thể là một đoạn axit nucleic. Vectơ biểu hiện bao gồm catxét biểu hiện trong đó polynucleotit mã hóa IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch (đoạn) (tức là vùng mã hóa) được vô tính trong sự kết hợp có thể hoạt động với chất tăng cường và/hoặc các nhân tố đối chứng sao chép hoặc chuyển dịch khác. Theo sáng chế, "vùng mã hóa" là một phần của axit nucleic trong đó gồm có các đơn vị mã được chuyển dịch thành các axit amin. Mặc dù "đơn vị kết thúc phiên mã" (TAG, TGA, hoặc TAA)

không được dịch mã thành axit amin, nó có thể được coi là một phần của một vùng mã hóa, nếu có mặt, nhưng các trình tự bên bất kỳ, ví dụ các chất tăng cường, các vị trí gắn kết ribosom, các đầu sao chép, các vùng nội gen, các vùng không được chuyển dịch5' và 3', và tương tự, không phải là một phần của vùng mã hóa. Hai hoặc nhiều vùng mã hóa có thể có mặt trong cấu trúc polynucleotit đơn, ví dụ trên vectơ đơn, hoặc trong các cấu trúc polynucleotit riêng rẽ, ví dụ trên các vectơ riêng rẽ (khác nhau). Hơn nữa, vectơ bất kỳ có thể chứa một vùng mã hóa đơn, hoặc có thể bao gồm hai nhiều vùng mã hóa, ví dụ vectơ của sáng chế có thể mã hóa một hoặc nhiều polyprotein, được tách rời đồng tịnh tiến hoặc tịnh tiến sau trong các protein cuối cùng nhờ sự phân tách proteolytic. Ngoài ra, vectơ, polynucleotit, hoặc axit nucleic của sáng chế có thể mã hóa các vùng mã hóa bất thường, hoặc được tiếp hợp hoặc không được hợp nhất với polynucleotit thứ nhất hoặc thứ hai mã hóa các polypeptit của sáng chế, hoặc biến thể hoặc dẫn xuất của chúng. Các vùng mã hóa bất thường bao gồm mà không giới hạn ở các nhân tố hoặc mô tip thích ứng, như tín hiệu peptit kích thích bài tiết hoặc miền chức năng bất thường. Sự kết hợp có thể hoạt động là khi một vùng mã hóa cho một sản phẩm gen, ví dụ polypeptit, được kết hợp với một hoặc nhiều trình tự điều tiết như cách để đưa vào sự biểu hiện của sản phẩm gen theo các ảnh hưởng hoặc đối chứng của trình tự điều tiết. Hai đoạn ADN (như vùng mã hóa polypeptit và chất tăng cường được kết hợp thêm) là "liên kết một cách có kiểm soát" nếu sự kích thích của chức năng chất tăng cường dẫn tới sự sao chép của mARN mã hóa sản phẩm gen mong muốn và nếu bản chất của sự liên kết giữa hai đoạn ADN không cản trở khả năng của sự biểu hiện các trình tự điều tiết để điều khiển sự biểu hiện của sản phẩm gen hoặc cản trở khả năng của mẫu ADN cần được sao chép. Do đó, vùng chất tăng cường sẽ được kết hợp có thể hoạt động với axit nucleic mã hóa polypeptit nếu chất tăng cường có khả năng thực hiện sự sao chép của axit nucleic đó. Chất tăng cường có thể là chất tăng cường đặc trưng tế bào mà điều khiển sự sao chép đáng kể của ADN chỉ trong các tế bào được xác định trước. Các nhân tố đối chứng sao chép khác, bên cạnh chất tăng cường, ví dụ các chất đẩy mạnh, các chất hoạt động, các chất kìm hãm, và

các tín hiệu giới hạn sao chép, có thể là được kết hợp có thể hoạt động với polynucleotit để sao chép đặc trưng tế bào T điều khiển. Các chất tăng cường phù hợp và các vùng đối chứng sao chép khác được bộc lộ ở đây. Nhiều vùng đối chứng sao chép khác nhau là đã biết đối với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các vùng này bao gồm, mà không giới hạn ở, các vùng đối chứng sao chép, mà thực hiện chức năng trong các tế bào động vật có xương sống, như, nhưng không bị giới hạn ở, các đoạn chất tăng cường và chất đẩy mạnh từ virut làm cho tế bào biểu mô to ra (ví dụ chất tăng cường ban đầu trực tiếp, liên kết với vùng nội gen-A), virut khỉ 40 (ví dụ chất tăng cường ban đầu), và các virut retro (như, ví dụ virut bướu thịt Rous). Các vùng đối chứng sao chép khác bao gồm các vùng có nguồn gốc từ các gen động vật có xương sống như actin, protein sốc nhiệt, hormon sinh trưởng bò và β-globin thỏ, cũng như các trình tự khác có khả năng kiểm soát gen biểu hiện trong các tế bào eukaryotic. Các vùng đối chứng sao chép phù hợp bổ sung bao gồm các chất tăng cường đặc trưng mô và các chất đẩy mạnh cũng như các chất tăng cường khả năng dẫn (ví dụ, các chất tăng cường các tetraxyclin có khả năng dẫn). Tương tự, nhiều nhân tố đối chứng chuyển dịch khác nhau là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Chúng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các vị trí gắn kết ribosom, sự bắt đầu chuyển dịch và các đơn vị mã tận cùng, và các nhân tố có nguồn gốc từ các hệ do virut gây ra (cụ thể là vị trí đầu vào ribosome bên trong, hoặc IRES, cũng được đề cập đến như trình tự CITE). Catxét biểu hiện cũng có thể bao gồm các đặc tính khác như một căn nguyên của sự sao chép, và/hoặc các nhân tố tích hợp nhiễm sắc thể như các sự lặp lại tận cùng dài do virut retro gây ra (LTRs), hoặc các đầu lặp đảo nghịch (ITR) do virut gây ra kết hợp adeno (AAV).

Các vùng mã hóa polynucleotit và axit nucleic của sáng chế có thể được kết hợp với các vùng mã hóa bổ sung mã hóa các peptit kích thích bài tiết hoặc phát tín hiệu, trong đó điều khiển sự bài tiết của polypeptit được mã hóa bằng polynucleotit của sáng chế. Ví dụ, nếu sự bài tiết của polypeptit IL-2 đột biến được mong muốn, ADN mã hóa trình tự tín hiệu có thể được thay thế ngược

dòng của axit nucleic mã hóa các axit amin trưởng thành của IL-2 đột biến. Đối với các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế hoặc các đoạn của chúng được áp dụng tương tự. Theo giả thuyết tín hiệu, các protein được tiết ra bởi các tế bào động vật có vú có trình tự dẫn đầu peptit phát tín hiệu hoặc kích thích bài tiết được tách từ protein trưởng thành một lần xuất ra của chuỗi protein tăng trưởng ngang qua mô lưới nội chất thô đã được đề xuất. Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể nhận ra rằng các polypeptit được tiết ra bởi các tế bào động vật có xương sống nhìn chung có peptit phát tín hiệu được hợp nhất với đầu N- của polypeptit, mà được tách từ polypeptit được chuyển dịch để tạo ra dạng được tiết ra hoặc "trưởng thành" của polypeptit. Ví dụ, IL-2 người được chuyển dịch với 20 trình tự tín hiệu axit amin ở đầu N- của polypeptit, mà sau đó được tách rời để tạo ra 133 axit amin IL-2 người, trưởng thành. Theo các phương án nhất định, peptit phát tín hiệu tự nhiên, ví dụ, peptit phát tín hiệu IL-2 hoặc chuỗi nặng globulin miễn dịch hoặc chuỗi nhẹ peptit phát tín hiệu được sử dụng, hoặc dẫn xuất chức của chúng của trình tự đó mà duy trì khả năng để điều khiển sự bài tiết của polypeptit mà được kết hợp có thể hoạt động với nó. Ngoài ra, peptit phát tín hiệu động vật có vú bất thường, hoặc dẫn xuất chức của chúng, có thể được sử dụng. Ví dụ, trình tự dẫn đầu dạng tự nhiên có thể đã thay thế bằng trình tự dẫn đầu của chất hoạt hóa plasminogen mô người (TPA) hoặc glucuronidaza β- động vật gặm nhấm. Axit amin và các trình tự polynucleotit mẫu của các peptit phát tín hiệu kích thích bài tiết được nêu trong SEQ ID NO 236-273.

ADN mã hóa trình tự protein ngắn mà có thể được sử dụng để tạo thuận lợi cho sự tinh chế sau này (ví dụ, thẻ Histidin) hoặc trợ giúp khi gắn nhãn IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch có thể được bao gồm trong hoặc ở các đầu của IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch (đoạn) mã hóa polynucleotit.

Theo một phương án nữa, tế bào chủ bao gồm một hoặc nhiều polynucleotit của sáng chế được cung cấp. Theo các phương án nhất định, tế bào chủ bao gồm một hoặc nhiều vectơ của sáng chế được cung cấp. Các polynucleotit và các vectơ có thể kết hợp các đặc tính bất kỳ, riêng rẽ hoặc kết

hợp, được mô tả ở đây liên quan đến các polynucleotit và các vectơ tương ứng. Theo phương án này, tế bào chủ bao gồm (ví dụ, đã được biến đổi hoặc được truyền nhiễm với) vectơ bao gồm polynucleotit mã hóa trình tự axit amin bao gồm polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế. Theo sáng chế, thuật ngữ "tế bào chủ" đề cập đến loại bất kỳ của hệ tế bào mà có thể được sử dụng kỹ thuật di truyền học để tạo ra các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế hoặc các đoạn của chúng. Các tế bào chủ phù hợp để nhân bản và để hỗ trợ sự biểu hiện của các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các tế bào này có thể được truyền nhiễm hoặc được chuyển đổi khi thích hợp với vectơ biểu hiện cụ thể và số lượng lớn các vectơ có chứa các tế bào có thể được sinh trưởng để cấy các chất lên men quy mô lớn để thu được số lượng vừa đủ của IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch cho các ứng dụng lâm sàng. Các tế bào chủ phù hợp bao gồm các vi sinh vật prokaryotic, như *E. coli*, hoặc các tế bào eukaryotic khác, như các tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc (CHO), các tế bào T côn trùng, hoặc các tế bào tương tự. Ví dụ, các polypeptit có thể được tạo ra trong vi khuẩn cụ thể là khi glycosyl hóa là không cần thiết. Sau khi biểu hiện, polypeptit có thể được phân lập từ bột tế bào của vi khuẩn trong các phần có thể hòa tan và có thể còn được tinh chế. Thêm vào các vi khuẩn prokaryotes, eukaryotic như nấm dạng sợi hoặc nấm men được nhân bản phù hợp hoặc các vật chủ biểu hiện đối với các vectơ mã hóa polypeptit, bao gồm các giống nấm dạng sợi và nấm men trong đó chuỗi các phản ứng hóa sinh glycosyl hóa đã "được làm tương thích với người," dẫn tới sự sản xuất của polypeptit với một phần hoặc toàn bộ mẫu gốc glycosyl hóa người. Xem, Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004), và Li et al., Nat Biotech 24, 210-215 (2006). Các tế bào chủ phù hợp cho sự biểu hiện của (được glycosyl hóa) các polypeptit cũng có nguồn gốc từ các sinh vật đa bào (các động vật không có xương sống và các động vật có xương sống). Các ví dụ về các tế bào động vật không có xương sống bao gồm các tế bào T thực vật và côn trùng. Nhiều virut baculodo gây ra các trạng thái căng thẳng đã được xác định trong đó có thể được sử dụng liên kết với

các tế bào T côn trùng, cụ thể là đối với sự truyền nhiễm của các tế bào *Spodoptera frugiperda*. Tế bào T thực vật nuôi trồng cũng được sử dụng như các vật chủ. Xem, ví dụ US 5,959,177, US 6,040,498, US 6,420,548, US 7,125,978, và US 6,417,429 (mô tả kỹ thuật PLANTIBODIES™ để sản xuất các kháng thể trong các thực vật chuyển gen). Các tế bào động vật có xương sống cũng có thể được sử dụng như các vật chủ. Ví dụ, các dòng tế bào động vật có vú được điều chỉnh thích ứng để sinh trưởng trong thể vẫn có thể hữu ích. Các ví dụ khác về các dòng tế bào chủ động vật có vú hữu ích là dòng CV1 thận khỉ được biến đổi bởi SV40 (COS-7); dòng thận phôi thai người (các tế bào T 293 hoặc 293 như được mô tả, ví dụ, trong Graham et al., J Gen Virol 36, 59 (1977)), các tế bào thận chuột nhỏ (BHK), các tế bào sertoli động vật gặm nhấm (các tế bào TM4) như được mô tả, ví dụ, trong Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)), các tế bào thận khỉ (CV1), các tế bào thận khỉ xanh Châu Phi (VERO-76), các tế bào ung thư biểu mô cổ người (HELA), các tế bào thận chó (MDCK), các tế bào gan chuột đầu bò (BRL 3A), các tế bào phổi người (W138), các tế bào gan người (Hep G2), các tế bào khối u vú động vật gặm nhấm (MMT 060562), các tế bào TRI (như được mô tả, ví dụ, trong Mather et al., Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)), các tế bào MRC 5, và các tế bào FS4. Các dòng tế bào chủ động vật có vú hữu ích khác bao gồm các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO), bao gồm các tế bào dhfr$^-$ CHO (Urlaub et al., Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980)); và các dòng tế bào u tủy như YO, NS0, P3X63 và Sp2/0. Để xem xét về các dòng tế bào chủ động vật có vú nhất định phù hợp để sản xuất protein, xem, ví dụ, Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003). Các tế bào chủ bao gồm các tế bào được nuôi cấy, ví dụ, các tế bào được nuôi cấy động vật có vú, các tế bào T nấm men, các tế bào T côn trùng, các tế bào vi khuẩn và các tế bào T thực vật, chỉ để chỉ định không nhiều, nhưng các tế bào cũng được bao gồm trong động vật chuyển gen, thực vật chuyển gen hoặc thực vật được nuôi cấy hoặc mô động vật. Theo một phương án, tế bào chủ là tế bào nhân thực, tốt hơn là tế bào động vật có vú, như tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc

(CHO), tế bào thận phôi thai người (HEK) hoặc tế bào mạch bạch huyết (ví dụ, tế bào Y0, NS0, Sp20).

Các kỹ thuật chuẩn là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để biểu hiện các gen ngẫu nhiên trong các hệ này. Các tế bào biểu hiện polypeptit IL-2 đột biến được hợp nhất với hoặc chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng của miền gắn kết kháng nguyên như kháng thể, có thể được sử dụng kỹ thuật di truyền học như để cũng biểu hiện các phần khác của các chuỗi kháng thể để sản phẩm hợp nhất IL-2 đột biến được biểu hiện là kháng thể có cả hai chuỗi nhẹ và chuỗi nặng.

Theo một phương án, phương pháp sản xuất polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế được cung cấp, trong đó phương pháp bao gồm việc cấy tế bào chủ bao gồm polynucleotit mã hóa polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch, như được cung cấp ở đây, dưới các điều kiện phù hợp đối với sự biểu hiện của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch, và tùy ý thu hồi polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi cấy tế bào chủ).

Theo các phương án nhất định theo sáng chế polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với ít nhất một gốc không IL-2. IL-2 đột biến có thể được điều chế nơi đoạn polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với một hoặc nhiều phân tử như polypeptit, protein, cacbohydrat, lipit, axit nucleic, polynucleotit hoặc các phân tử là các sự kết hợp của các phân tử này (ví dụ, các glycoprotein, các glycolipit v.v..). polypeptit IL-2 đột biến cũng có thể được liên kết với gốc hữu cơ, gốc vô cơ hoặc dược chất. Theo sáng chế, dược chất là một hữu cơ có chứa hợp chất của khoảng 5.000 đơn vị khối lượng nguyên tử hoặc nhỏ hơn. Polypeptit IL-2 đột biến cũng có thể được liên kết với tác nhân sinh học bất kỳ bao gồm các hợp chất điều trị như các tác nhân kháng tạo hình lại, các tác nhân kháng khuẩn, các hormon, các chất điều biến miễn dịch, các tác nhân kháng viêm và các tác nhân tương tự. Cũng được bao gồm là các đồng vị phóng xạ như các đồng vị phóng xạ có ích để siêu âm cũng như để điều trị.

Polypeptit IL-2 đột biến cũng có thể được liên kết với nhiều phân tử của cùng loại hoặc với nhiều hơn một loại phân tử. Theo các phương án nhất định, phân tử được liên kết với IL-2 có thể trao khả năng để hướng đích IL-2 đến các mô hoặc các tế bào cụ thể ở một động vật, và được đề cập đến ở đây như "gốc đích". Theo các phương án này, gốc đích có thể có ái lực đối với một phối tử hoặc thụ thể trong mô hoặc tế bào đích, nhờ đó điều khiển IL-2 đến mô hoặc tế bào đích. Theo một phương án cụ thể, gốc đích điều khiển IL-2 đến khối u. Các gốc đích bao gồm, ví dụ, gốc liên kết kháng nguyên (ví dụ, các kháng thể và các đoạn của chúng) đặc trưng về bề mặt tế bào hoặc các protein nội bào, các phối tử của các thụ thể sinh học và tương tự. Gốc liên kết kháng nguyên này có thể được đặc trưng về các kháng nguyên liên kết khối u như các kháng nguyên được mô tả ở đây.

Polypeptit IL-2 đột biến có thể được hợp nhất về mặt di truyền với polypeptit khác, ví dụ chuỗi kháng thể đơn, hoặc (một phần của) các chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng kháng thể, hoặc có thể được tiếp hợp về mặt hóa học với phân tử khác. Sự hợp nhất của polypeptit IL-2 đột biến với một phần của chuỗi nặng kháng thể được mô tả trong các ví dụ. IL-2 đột biến mà là sự hợp nhất giữa polypeptit IL-2 đột biến và polypeptit khác có thể được thiết kế để trình tự IL-2 được tiếp hợp trực tiếp hoặc không trực tiếp với polypeptit thông qua một cầu nối trình tự. Chế phẩm và độ dài của cầu nối có thể được xác định theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và có thể được thử nghiệm về tính hiệu quả. Ví dụ về cầu nối trình tự giữa IL-2 và chuỗi nặng kháng thể được tìm thấy trong các trình tự được thể hiện, ví dụ trong các SEQ ID NO 209, 211, 213 v.v.. Các trình tự bổ sung cũng có thể được bao gồm để kết hợp một vị trí phân tách để tách các thành phần riêng của hợp nhất nếu muốn, ví dụ trình tự nhận dạng endopeptidaza. Ngoài ra, IL-2 đột biến hoặc hợp nhất protein của chúng cũng có thể được tổng hợp hóa học nhờ sử dụng các phương pháp tổng hợp polypeptit như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, tổng hợp pha rắn Merrifield). Các polypeptit interleukin-2 đột biến có thể được tiếp hợp hóa học với các phân tử khác, ví dụ polypeptit khác, nhờ sử dụng các phương pháp tiếp

hợp hóa học đã biết. Các phản ứng liên kết ngang lưỡng chức như các phản ứng liên kết ngang đồng chức và dị chức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật có thể được sử dụng cho các mục đích này. Loại phản ứng liên kết ngang được sử dụng tùy thuộc vào bản chất của phân tử cần được ghép cặp với IL-2 và có thể được xác định dễ dàng bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, hoặc bổ sung thêm, IL-2 đột biến và/hoặc phân tử cho chúng được dự định để được tiếp hợp có thể được dẫn xuất về mặt hóa học để cả hai có thể được tiếp hợp trong phản ứng riêng rẽ như cũng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo các phương án nhất định polypeptit IL-2 đột biến được liên kết với một hoặc nhiều gốc liên kết kháng nguyên (tức là, là một phần của thể tiếp hợp miễn dịch) bao gồm ít nhất một vùng biến đổi kháng thể có khả năng gắn kết sự xác định kháng nguyên. Các vùng biến đổi có thể tạo thành một phần của và có nguồn gốc từ các kháng thể có hoặc không có trong tự nhiên và các đoạn của chúng. Các phương pháp để tạo ra các kháng thể đa dòng và các kháng thể đơn dòng là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ Harlow và Lane, "Antibodies, a LABORATORY manual", Cold Spring Harbor LABORATORY, 1988). Các kháng thể không có trong tự nhiên có thể được cấu trúc nhờ sử dụng sự tổng hợp peptit pha rắn, có thể được tạo ra tái tổ hợp (ví dụ như được mô tả trong US 4,186,567) hoặc có thể đã thu được, ví dụ, bằng cách chiếu các thư viện tổ hợp bao gồm các chuỗi nặng biến đổi và các chuỗi nhẹ biến đổi (xem, ví dụ US 5,969,108 cấp cho McCafferty). Các thể tiếp hợp miễn dịch, gốc liên kết kháng nguyên và các phương pháp để sản xuất tương tự cũng được mô tả chi tiết trong WO 2011/020783, toàn bộ nội dung của tài liệu này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn.

Các loài động vật của kháng thể, phần kháng thể, miền gắn kết kháng nguyên hoặc vùng biến đổi bất kỳ có thể được liên kết với polypeptit IL-2 đột biến. Các kháng thể, các phần kháng thể, các miền gắn kết kháng nguyên hoặc các vùng biến đổi không giới hạn là hữu ích theo sáng chế có thể là của gốc họ nhà chuột, động vật linh trưởng, hoặc người. Nếu IL-2 đột biến/kháng thể tiếp hợp hoặc hợp nhất dự định để sử dụng ở người, dạng khảm của kháng thể có thể

được sử dụng trong đó các vùng ổn định của kháng thể là từ người. Dạng của người toàn bộ hoặc được làm tương thích với người của kháng thể cũng có thể được điều chế theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ US 5,565,332 của Winter). Sự nhân tính hóa có thể đạt được bằng các phương pháp khác nhau bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở (a) ghép các CDRs không phải của người (ví dụ, kháng thể cho) trên các vùng ổn định và vùng khung người (ví dụ, kháng thể nhận) có hoặc không có sự duy trì của các khung gốc then chốt (ví dụ, chúng là quan trọng để duy trì ái lực gắn kết kháng nguyên hoặc các chức năng kháng thể phù hợp), (b) chỉ ghép các vùng xác định đặc trưng không phải của người (SDRs hoặc -CDRs; các gốc then chốt đối với sự tương tác kháng thể-kháng nguyên) trên các vùng ổn định và vùng khung người, hoặc (c) cấy ghép toàn bộ các miền biến đổi không phải của người, nhưng "đội lốt" chúng với phần như người bởi sự thay thế của các gốc bề mặt. Các kháng thể được làm tương thích với người và các phương pháp tạo ra chúng được cân nhắc, ví dụ, trong Almagro và Fransson, Front Biosci 13, 1619-1633 (2008), và còn được mô tả, ví dụ, trong Riechmann et al., Nature 332, 323-329 (1988); Queen et al., Proc Natl Acad Sci USA 86, 10029-10033 (1989); các US 5,821,337, US 7,527,791, US 6,982,321, và US 7,087,409; Jones et al., Nature 321, 522-525 (1986); Morrison et al., Proc Natl Acad Sci 81, 6851-6855 (1984); Morrison and Oi, Adv Immunol 44, 65-92 (1988); Verhoeyen et al., Science 239, 1534-1536 (1988); Padlan, Molec Immun 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri et al., Methods 36, 25-34 (2005) (mô tả ghép SDR (a-CDR)); Padlan, Mol Immunol 28, 489-498 (1991) (mô tả “resurfacing”); Dall’Acqua et al., Methods 36, 43-60 (2005) (mô tả “bố trí lại FR”); và Osbourn et al., Methods 36, 61-68 (2005) và Klimka et al., Br J Cancer 83, 252-260 (2000) (mô tả “chọn lọc có định hướng” phương pháp để bố trí lại FR). Các kháng thể người và các vùng biến đổi người có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết khác nhau trong lĩnh vực kỹ thuật. Các kháng thể người nhìn chung được mô tả trong van Dijk and van de Winkel, Curr Opin Pharmacol 5, 368-74 (2001) và Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 450-459 (2008). Các vùng biến đổi người có

thể tạo thành một phần của và có nguồn gốc từ các kháng thể đơn dòng người được tạo ra bằng phương pháp tế bào lai (xem, ví dụ, các kỹ thuật và các ứng dụng sản xuất kháng thể đơn dòng, các trang 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)). Các kháng thể người và các vùng biến đổi người cũng có thể được điều chế bởi việc cung cấp chất kháng nguyên cho chuyển gen động vật mà đã được sửa đổi để tạo ra các kháng thể người nguyên vẹn hoặc các kháng thể nguyên vẹn với các vùng biến đổi người đáp ứng với sự kích thích kháng nguyên (xem, ví dụ Lonberg, Nat Biotech 23, 1117-1125 (2005). Các kháng thể người và các vùng biến đổi người cũng có thể được tạo ra bằng cách tách Fv các trình tự vùng biến đổi vô tính được chọn từ các thư viện bộc lộ thể thực khuẩn từ người (xem ví dụ, Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178, 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); và McCafferty et al., Nature 348, 552-554; Clackson et al., Nature 352, 624-628 (1991)). Các phần kháng thể bộc lộ thể thực khuẩn cụ thể, hoặc như các đoạn chuỗi đơn Fv (scFv) hoặc như các đoạn Fab. Sự mô tả chi tiết về việc điều chế gốc liên kết kháng nguyên trong các thể tiếp hợp miễn dịch bằng cách bộc lộ thể thực khuẩn có thể được tìm thấy trong các ví dụ nêu trong WO 2011/020783.

Theo các phương án nhất định, gốc liên kết kháng nguyên hữu ích theo sáng chế được sử dụng kỹ thuật di truyền học để được nâng cao ái lực gắn kết theo, ví dụ, các phương pháp được bộc lộ trong WO 2011/020783 (xem, các ví dụ liên quan đến ái lực trưởng thành) hoặc US 2004/0132066, toàn bộ nội dung của chúng được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Khả năng gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế với sự xác định kháng nguyên cụ thể có thể là được đo hoặc thông qua thử nghiệm hấp thụ được liên kết enzym (ELISA) hoặc các kỹ thuật khác quen thuộc đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ kỹ thuật cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (được phân tích trên hệ BIACORE T100) (Liljeblad, et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)), và các thử nghiệm gắn kết truyền thống (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)). Các thử nghiệm cạnh tranh có thể được sử dụng để nhận dạng một kháng thể, phần kháng thể, miền gắn kết kháng nguyên hoặc miền biến đổi mà cạnh tranh với

một kháng thể tham khảo để gắn kết với một kháng nguyên cụ thể, ví dụ kháng thể cạnh tranh với kháng thể L19 để gắn kết với miền B phụ của Fibronectin (EDB). Theo các phương án nhất định, như một kháng thể cạnh tranh gắn kết với cùng epitop (ví dụ, epitop cân xứng hoặc tuyến) được gắn kết bằng kháng thể tham khảo. Các phương pháp mẫu chi tiết để sắp đặt epitop với kháng thể gắn kết được cung cấp trong Morris (1996) "Epitop Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ). Trong một thử nghiệm cạnh tranh mẫu, kháng nguyên được giữ cố định (ví dụ, EDB) được nuôi cấy trong dung dịch bao gồm kháng thể được dán nhãn thứ nhất gắn kết với kháng nguyên (ví dụ, kháng thể L19) và kháng thể không được dán nhãn thứ hai đang được thử nghiệm về khả năng cạnh tranh của chúng với kháng thể thứ nhất để gắn kết với kháng nguyên. Kháng thể thứ hai có thể có mặt trong dịch nổi nuôi cấy tế bào lai. Như một đối chứng, kháng nguyên được giữ cố định được nuôi cấy trong dung dịch bao gồm kháng thể được dán nhãn thứ nhất mà không có kháng thể không được dán nhãn thứ hai. Sau khi nuôi cấy dưới các điều kiện cho phép để gắn kết của kháng thể thứ nhất với kháng nguyên, kháng thể không được gắn kết quá mức được loại bỏ, và số lượng của nhãn được kết hợp với kháng nguyên được giữ cố định được đo. Nếu số lượng nhãn được kết hợp với kháng nguyên được giữ cố định về cơ bản được giảm trong mẫu thử nghiệm liên quan đến mẫu đối chứng, sau đó chỉ báo rằng kháng thể thứ hai cạnh tranh với kháng thể thứ nhất để gắn kết với kháng nguyên. Xem Harlow và Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch,14 (Cold Spring Harbor LABORATORY, Cold Spring Harbor, NY).

Cải biến hóa học tiếp của IL-2 đột biến đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được mong muốn. Ví dụ, các vấn đề về chu kỳ bán thải tạo miễn dịch và ngắn có thể được cải tiến bằng sự tiếp hợp về cơ bản với các polymer chuỗi thẳng như polyetylen glycol (PEG) hoặc polypropylen glycol (PPG) (xem, ví dụ WO 87/00056).

Các đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 được điều chế theo sáng chế có thể được tinh chế bằng các kỹ thuật đã biết như sắc ký lỏng hiệu suất cao,

sắc ký trao đổi ion, điện di gel, sắc ký ái lực, sắc ký loại trừ kích thước, và các kỹ thuật tương tự. Các điều kiện thực tế được sử dụng để tinh chế một protein cụ thể sẽ phụ thuộc, một phần, vào các nhân tố như điện tích mạng, tính kỵ nước, tính ưa nước v.v., và sẽ là rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Đối với sự tinh chế sắc ký ái lực một kháng thể, phối tử, thụ thể hoặc kháng nguyên có thể được sử dụng để gắn kết polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch. Ví dụ, kháng thể gắn kết cụ thể polypeptit IL-2 đột biến có thể được sử dụng. Đối với sự tinh chế sắc ký ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, thể mẹ có protein A hoặc protein G có thể được sử dụng. Ví dụ, sắc ký ái lực và sắc ký loại trừ kích thước Protein A hoặc G liên tiếp có thể được sử dụng để được phân lập thể tiếp hợp miễn dịch về cơ bản như được mô tả trong các ví dụ. Sự tinh chế của các polypeptit interleukin-2 đột biến và hợp nhất các protein của chúng có thể được xác định bằng các phương pháp phân tích đã biết bất kỳ bao gồm điện di gel, sắc ký lỏng áp suất cao, và các phương pháp tương tự. Ví dụ, các protein hợp nhất chuỗi nặng được biểu hiện như được mô tả trong các ví dụ được thể hiện để trở nên nguyên vẹn và được đánh giá thích hợp như được chứng minh bởi sự biến đổi SDS-PAGE (xem, ví dụ Fig. 14). Hai dải được chuyển sang ở xấp xỉ Mr 25.000 và Mr 60.000, tương ứng với các trọng lượng phân tử đã tiên đoán của globulin miễn dịch chuỗi nhẹ và chuỗi nặng/protein hợp nhất IL-2.

Các thử nghiệm

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch được cung cấp ở đây có thể được xác định, được quét để, hoặc được đặc trưng về các đặc tính hóa/lý và/hoặc các hoạt tính sinh học của chúng bằng các thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các ái lực thử nghiệm

Ái lực của polypeptit IL-2 đột biến hoặc dạng tự nhiên đối với các dạng khác nhau của thụ thể IL-2 có thể được xác định theo phương pháp được thiết lập trong các ví dụ bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR), sử dụng

thiết bị đo tiêu chuẩn như thiết bị BIAcore (GE Healthcare), và các đơn vị con thụ thể như có thể đã thu được bằng sự tái tổ hợp biểu hiện (xem, ví dụ Shanafelt et al., Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000)). Chất dị dime đơn vị con thụ thể IL-2 β/γ tái tổ hợp có thể được tạo ra bằng cách tiếp hợp mỗi trong số các đơn vị con với miền Fc kháng thể monome được sửa đổi bằng kỹ thuật các chìa khóa-trong-lỗ khóa (xem, ví dụ U.S 5,731,168) để đẩy mạnh sự dị dime hóa của các protein hợp nhất đơn vị con/Fc thụ thể thích hợp (xem, SEQ ID NO 102 và 103). Ngoài ra, ái lực gắn kết của các đột biến IL-2 đối với các dạng khác nhau của thụ thể IL-2 có thể được đánh giá nhờ sử dụng các dòng tế bào đã biết để biểu hiện một thụ thể hoặc các dạng khác của thụ thể. Một phương án mẫu và mô tả cụ thể để đo ái lực gắn kết được mô tả trong phần dưới đây và trong các ví dụ dưới đây. Theo một phương án, K_D được đo bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt sử dụng máy BIACORE® T100 (GE Healthcare) ở 25°C với thụ thể IL-2s được giữ cố định trên các vi mạch CM5. Tóm lại, các vi mạch cảm biến sinh học dextran được cacboxymetylat hóa (CM5, GE Healthcare) được hoạt hóa với N-etyl-N'-(3-heterodimetylaminopropyl)-carbodiimit hydroclorua (EDC) và N-hydroxysuxinimit (NHS) theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Sự tái tổ hợp thụ thể IL-2 được pha loãng vớih 10 mM natri axetat, pH 5,5, đến 0,5-30 µg/ml trước khi tiêm ở tốc độ dòng 10 µl/phút để đạt được xấp xỉ 200 - 1000 (đối với nhóm nhỏ α IL-2R) hoặc 500-3000 (đối với chất dị dime các chìa khóa-trong- lỗ khóa βγ IL-2R) các đơn vị phản ứng (RU) của protein được ghép cặp. Tiếp theo việc tiêm của thụ thể IL-2, 1 M etanolamin được tiêm để khóa các nhóm không phản ứng. Để đo các động lực, chuỗi pha loãng ba-lần của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch (nằm trong phạm vi trong khoảng 0,3 nM đến 300 nM) được tiêm vào HBS-EP+ (GE Healthcare, 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% chất có hoạt tính bề mặt P20, pH 7,4) ở 25°C ở tốc độ dòng chảy xấp xỉ 30 µl/phút. Các tốc độ kết hợp (k_{on}) và các tốc độ phân ly (k_{off}) được tính nhờ sử dụng kiểu gắn kết Langmuir một-đến-một đơn giản (phần mềm tính toán BIACORE ® T100 phiên bản 1.1.1) bằng việc điều chỉnh đồng

thời các sensorgram kết hợp và phân ly. Hằng số phân ly ổn định (K_D) được tính như tỷ lệ k_{off}/k_{on}. Xem, ví dụ, Chen et al., J Mol Biol 293, 865-881 (1999).

Sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế với các thụ thể Fc có thể được xác định dễ dàng, ví dụ bằng ELISA, hoặc bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) nhờ sử dụng thiết bị đo tiêu chuẩn như thiết bị BIAcore (GE Healthcare), và các thụ thể Fc như đã có thể thu được bằng sự tái tổ hợp biểu hiện. Ngoài ra, ái lực gắn kết của các miền Fc hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm miền Fc cho các thụ thể Fc có thể được đánh giá nhờ sử dụng các dòng tế bào đã biết để biểu hiện các thụ thể Fc cụ thể, như các tế bào NK biểu hiện thụ thể FcγIIIa. Theo một phương án, K_D được đo bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt nhờ sử dụng thiết bị BIACORE® T100 (GE Healthcare) ở 25°C với các thụ thể Fc được giữ cố định trên các mạch CM5s. Tóm lại, các mạch cảm biến sinh học dextran được cacboxymetylat hóa (CM5, GE Healthcare) được hoạt hóa với N-etyl-N'-(3-heterodimetylaminopropyl)-carbodiimit hydroclorua (EDC) và N-hydroxysuxinimit (NHS) theo các chỉ dẫn của nhà cung cấp. Thụ thể Fc tái tổ hợp được pha loãng với 10 mM natri axetat, pH 5,5, đến 0,5-30 µg/ml trước khi tiêm ở tốc độ dòng chảy 10 µl/phút để đạt được xấp xỉ 100-5000 đơn vị phản ứng (RU) của protein được ghép cặp. Tiếp theo việc tiêm của Fc thụ thể, 1 M etanolamin được tiêm để chặn các nhóm không được phản ứng. Để đo các động lực, các chuỗi pha loãng ba đến năm-lần của thể tiếp hợp miễn dịch (nằm trong phạm vi trong khoảng 0,01 nM đến 300 nM) được tiêm vào HBS-EP+ (GE Healthcare, 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% chất có hoạt tính bề mặt P20, pH 7,4) ở 25°C ở tốc độ dòng chảy xấp xỉ 30-50 µl/phút. Các tốc độ kết hợp (k_{on}) và các tốc độ phân ly (k_{off}) được tính nhờ sử dụng kiểu gắn kết Langmuir một-đến-một đơn giản (phần mềm tính toán BIACORE ® T100 phiên bản 1.1.1) bằng việc điều chỉnh đồng thời các sensorgram kết hợp và phân ly. Hằng số phân ly ổn định (K_D) được tính như tỷ lệ k_{off}/k_{on}. Xem, ví dụ, Chen et al., J Mol Biol 293, 865-881 (1999).

Các thử nghiệm hoạt hóa

Khả năng của IL-2 đột biến gắn kết với các thụ thể IL-2s có thể được đo gián tiếp bằng cách thử nghiệm các tác động của sự hoạt hóa miễn dịch xảy ra xuôi dòng của sự gắn kết thụ thể.

Theo một khía cạnh, các thử nghiệm được cung cấp để nhận dạng các polypeptit interleukin-2 đột biến có hoạt hóa sinh học. Các hoạt tính sinh học có thể bao gồm, ví dụ, khả năng để gây ra sự tăng sinh của thụ thể IL-2-mang các tế bào T và/hoặc NK, khả năng để gây ra phát tín hiệu IL-2 trong thụ thể IL-2-mang các tế bào T và/hoặc NK, khả năng để tạo ra (IFN)-γ interferon như xytokin thứ cấp bằng các tế bào NK, khả năng gây ra sự phát sinh giảm của các xytokin thứ cấp, cụ thể là IL-10 và TNF-α, bằng các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMCs), khả năng gây ra sự tự sát của tế bào giảm trong các tế bào T, khả năng gây ra sự thoái bộ khối u và/hoặc cải thiện khả năng sống, và tiểu sử độc tính giảm, cụ thể là khả năng thấm mạch giảm, *in vivo*. Các polypeptit interleukin-2 đột biến có hoạt hóa sinh học *in vivo* và/hoặc in vitro này cũng được cung cấp.

Theo các phương án nhất định, polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế được thử nghiệm về hoạt hóa sinh học này. Nhiều phương pháp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để xác định các hoạt tính sinh học của IL-2, và hơn nữa các chi tiết của nhiều phương pháp này đã được bộc lộ trong các ví dụ kèm theo tài liệu này. Các ví dụ cung cấp thử nghiệm phù hợp để kiểm tra các đột biến IL-2 của sáng chế về khả năng tạo ra IFN-γ bằng các tế bào NK của chúng. Các tế bào NK đã nuôi cấy được nuôi cấy bằng polypeptit IL-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, và nồng độ IFN-γ trong môi trường nuôi cấy sau đó được đo bằng ELISA.

IL-2 gây ra sự phát tín hiệu gây ra một vài chuỗi các phản ứng hóa sinh phát tín hiệu, và bao gồm các phân tử phát tín hiệu JAK (Janus kinaza) và STAT (bộ chuyển đổi tín hiệu và chất hoạt hóa của sự sao chép). Sự tương tác của IL-2 với các đơn vị con thụ thể β- và γ- dẫn đến sự phosphoryl hóa của thụ thể và của JAK1 và JAK3, mà được kết hợp với đơn vị con β- và γ- tương ứng. Sau đó,

STAT5 được kết hợp với thụ thể được phosphoryl hóa và được phosphoryl hóa chính nó trên yếu tố quyết định gốc tyrosin. Điều này dẫn tới sự phân ly của STAT5 từ thụ thể, sự dime hóa của STAT5 và sự hoán vị của các hợp chất dime STAT5 với các nhân trong đó chúng đẩy mạnh sự sao chép của các gen đích. Khả năng của các polypeptit interleukin-2 đột biến để gây ra sự phát tín hiệu thông qua thụ thể IL-2 do đó có thể được đánh giá, ví dụ, bằng việc đo đạc sự phosphoryl hóa của STAT5. Các chi tiết về phương pháp này được bộc lộ trong các ví dụ. PBMCs được xử lý bằng các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế và các mức STAT5 được phosphoryl hóa được xác định bằng sự đo đạc tế bào dòng chảy.

Sự tăng sinh của các tế bào T hoặc các tế bào NK phản ứng với IL-2 có thể được đo bằng cách nuôi cấy các tế bào T hoặc các tế bào NK được phân lập từ máu với các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, tiếp theo bằng việc xác định về hàm lượng ATP trong các dịch tế bào của các tế bào được xử lý. Trước khi điều trị, các tế bào T có thể được kích thích trước với ngưng kết tố hồng cầu thực vật (PHA-M). Thử nghiệm này được mô tả trong các ví dụ, cho phép xác định số lượng nhạy của số lượng các tế bào sống sót, tuy nhiên có nhiều thử nghiệm thay đổi phù hợp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, thử nghiệm kết hợp [^{3}H]-thymidin, các thử nghiệm Cell Titer Glo ATP, thử nghiệm Alamar Blue, thử nghiệm WST-1, thử nghiệm MTT).

Một thử nghiệm để xác định sự tự sát của tế bào của các tế bào T và AICD is cũng được cung cấp trong các ví dụ, trong đó các tế bào T được xử lý bằng sự tự sát của tế bào-gây ra kháng thể sau khi nuôi cấy với các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế và các tế bào apoptotic được xác định số lượng bằng sự phát hiện đếm tế bào dòng chảy của sự bộc lộ phosphatidyl serin/annexin. Các thử nghiệm khác là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các hiệu quả của IL-2 đột biến lên sự phát triển khối u và sự tồn tại có thể được đánh giá trong các kiểu khối u động vật khác nhau đã biết trong lĩnh vực

kỹ thuật. Ví dụ, các kiểu ghép dị chủng của các dòng tế bào ung thư người có thể được cấy vào chuột thiếu khả năng miễn dịch, và được xử lý bằng các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, như được mô tả trong các ví dụ.

Độc tính của các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế *in vivo* có thể được xác định dựa vào các quan sát tỷ lệ tử vong, thời gian tồn tại (các triệu chứng rõ ràng về các tác động bất lợi, ví dụ hành vi, trọng lượng cơ thể, nhiệt độ cơ thể) và bệnh lý giải phẫu học và lâm sàng (ví dụ các đo đạc về các trị số đặc tính hóa học máu và/hoặc các phân tích mô học).

Khả năng thấm mạch gây ra bởi việc điều trị bằng IL-2 có thể được xem xét trong kiểu khả năng thấm mạch động vật trước điều trị. Nhìn chung, IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế được cung cấp cho động vật phù hợp, ví dụ động vật gặm nhấm, và ở thời gian muộn hơn động vật được tiêm với phân tử báo cáo lỗ hổng trong mạch của sự phổ biến từ các hệ mạch phản ánh sự mở rộng khả năng thấm trong mạch. Phân tử báo cáo lỗ hổng trong mạch tốt hơn là đủ lớn để lộ khả năng thấm với dạng tự nhiên của IL-2 được sử dụng để điều trị trước. Một ví dụ về phân tử báo cáo lỗ hổng trong mạch có thể là protein huyết thanh như albumin hoặc globulin miễn dịch. Phân tử báo cáo lỗ hổng trong mạch tốt hơn là được dán nhãn có khả năng tháo rời như với đồng vị phóng xạ để tạo thuận lợi cho việc xác định số lượng của sự phân bổ mô của phân tử. Khả năng thấm trong mạch có thể được đo đối với các mạch có mặt trong bất kỳ trong số các cơ quan trong cơ thể khác nhau như gan, phổi, và các cơ quan tương tự, cũng như khối u, bao gồm khối u được ghép dị chủng. Phổi là cơ quan được ưu tiên để đo đạc khả năng thấm mạch của toàn bộ độ dài các đột biến IL-2.

Các chế phẩm, các công thức, và các tuyến cung cấp

Theo một khía cạnh nữa, sáng chế cung cấp các chế phẩm dược bao gồm bất kỳ trong số các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn

dịch được cung cấp ở đây, ví dụ, để sử dụng trong các phương pháp điều trị bất kỳ dưới đây. Theo một phương án, chế phẩm dược bao gồm bất kỳ trong số các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch được cung cấp ở đây và chất mang dược dụng. Theo một phương án khác, chế phẩm dược bao gồm bất kỳ trong số các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch được cung cấp ở đây và ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung, ví dụ, như được mô tả dưới đây.

Còn được cung cấp là phương pháp để sản xuất polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế ở dạng phù hợp để cung cấp *in vivo*, phương pháp bao gồm (a) thu được polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế, và (b) tạo thành công thức polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch với ít nhất một chất mang dược dụng, nhờ đó chế phẩm của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch được tạo thành để cung cấp *in vivo*.

Các chế phẩm dược của sáng chế bao gồm một lượng điều trị hữu hiệu của một hoặc nhiều polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch được hòa tan hoặc được phân tán trong chất mang dược dụng. Các cụm từ "dược dụng hoặc dược lý dụng" đề cập đến các thực thể phân tử và các chế phẩm nhìn chung không độc đối với các tá dược ở các liều và các nồng độ được sử dụng, tức là không tạo ra phản ứng bất lợi, dị ứng hoặc bất tiện khác khi được cung cấp cho động vật, như, ví dụ, người, khi thích hợp. Việc điều chế chế phẩm dược chứa ít nhất một polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch và tùy ý thành phần hoạt tính bổ sung sẽ được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật theo trạng thái bộc lộ hiện tại, như được lấy làm ví dụ bởi Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Hơn nữa, để cung cấp cho động vật (ví dụ, người), cần hiểu rằng các chế phẩm cần thỏa mãn tính vô trùng, tính gây sốt, các tiêu chuẩn an toàn chung và tính tinh khiết theo yêu cầu của Cục FDA về các tiêu chuẩn sinh học hoặc các quy định tương tự ở các nước khác. Các chế phẩm được ưa thích là các chế phẩm được đông khô hoặc các dung dịch

chứa nước. Các chế phẩm IL-2 mẫu được mô tả trong US 4,604,377 và US 4,766,106. Theo sáng chế, "chất mang dược dụng" bao gồm bất kỳ và toàn bộ các dung môi, đệm, môi trường phân tán, các chất phủ, các chất có hoạt tính bề mặt, các chất chống oxy hóa, các chất bảo quản (ví dụ các tác nhân kháng khuẩn, các tác nhân chống nấm), các tác nhân bảo toàn thứ tự, các tác nhân trì hoãn sự hấp thu, các muối, các chất bảo quản, các chất chống oxy hóa, các protein, các thuốc, các chất làm ổn định thuốc, các polyme, các keo, các chất kết dính, các tá dược, các tác nhân không tích hợp, các dầu nhớt, các tác nhân tạo ngọt, các tác nhân tạo hương vị, các chất làm khô, như các vật liệu thích hợp và các sự kết hợp của chúng, như đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn). Trừ khi đến mức mà như chất mang thông thường bất kỳ tương thích với thành phần hoạt tính, việc sử dụng chúng trong các chế phẩm dược hoặc điều trị được dự tính.

Chế phẩm có thể bao gồm các loại chất mang khác nhau tùy thuộc vào việc nó được cung cấp ở dạng sol khí, lỏng hoặc rắn, và nó cần được vô trùng cho các tuyến cung cấp này như tiêm truyền. Các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế (và tác nhân điều trị bổ sung bất kỳ) có thể được cung cấp trong tĩnh mạch, trong da, trong động mạch, trong màng bụng, trong vết thương, trong sọ, trong khớp, trong tuyến tiền liệt, trong cơ gối, trong thận, trong màng phổi, trong khí quản, trong mũi, trong thủy tinh thể, trong âm đạo, trong trực tràng, trong khối u, trong cơ, trong màng bụng, dưới da, màng kết phụ, trong bọng, niêm mạc, trong bao tim, trong rốn, trong mắt, qua miệng, điển hình, cục bộ, bằng cách hít (ví dụ, hít sol khí), tiêm, truyền, truyền liên tiếp, sự truyền dịch được định vị rửa các tế bào T đích trực tiếp, qua ống thông đường tiểu, qua rửa bộ phận trong cơ thể, trong các kem, trong các chế phẩm lipit (ví dụ các liposom), hoặc bằng phương pháp khác hoặc sự kết hợp bất kỳ ở phần trước như đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical

Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn). Việc cung cấp ngoài ruột, cụ thể là tiêm trong tĩnh mạch, hầu hết thường được sử dụng để cung cấp các phân tử polypeptit như các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế.

Các chế phẩm ngoài ruột bao gồm các chế phẩm được thiết kế để cung cấp bằng cách tiêm truyền, ví dụ tiêm dưới da, trong da, trong vết thương, trong tĩnh mạch, trong cơ trong động mạch, dịch tủy sống hoặc trong màng bụng. Để tiêm, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được tạo công thức trong các dung dịch chứa nước, tốt hơn là trong các đệm tương thích sinh lý học như dung dịch Hank, dung dịch Ringer, hoặc đệm muối sinh lý. Dung dịch có thể chứa các tác nhân tạo thành công thức như các tác nhân lơ lửng, các tác nhân ổn định và/hoặc các tác nhân phân tán. Ngoài ra, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch có thể ở dạng bột để thiết lập với dịch truyền phù hợp, ví dụ, nước giải phóng chất gây sốt vô trùng, trước khi sử dụng. Các dung dịch có thể tiêm vô trùng được điều chế bằng sự hợp nhất các polypeptit IL-2 hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế ở lượng yêu cầu trong dung môi thích hợp với các thành phần khác được liệt kê dưới đây, khi cần. Sự vô trùng có thể dễ dàng hoàn thành, ví dụ, bằng cách lọc thông qua các màng lọc vô trùng. Nhìn chung, các chất phân tán được điều chế bằng sự hợp nhất các thành phần hoạt tính đã vô trùng khác trong dịch truyền vô trùng trong đó có chứa môi trường phân tán nền và/hoặc các thành phần khác. Trong trường hợp các bột vô trùng để điều chế các dung dịch, các thể vẩn hoặc nhũ tương có thể tiêm vô trùng, các phương pháp ưu tiên để điều chế là các kỹ thuật sấy chân không hoặc ướp lạnh và làm khô trong đó sinh ra bột của thành phần hoạt tính thêm vào thành phần được mong muốn bổ sung bất kỳ từ môi trường lỏng được lọc vô trùng trước của chúng. Môi trường lỏng cần được đệm thích hợp nếu cần và chất pha loãng lỏng trước tiên được trao thứ tự bảo toàn trước khi tiêm với huyết thanh nhân tạo hoặc glucoza thích hợp. Chế phẩm phải ổn định dưới các điều kiện sản xuất và lưu giữ, và được bảo tồn chống lại hoạt động gây nhiễm của các vi sinh vật, như vi khuẩn và nấm. Được đánh giá cao là

sự nhiễm nội độc tố cần được giữ tối thiểu ở mức an toàn, ví dụ, nhỏ hơn 0,5 ng/mg protein. Các chất mang dược dụng phù hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; các chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và metionin; các chất bảo quản (như octadecylheterodimetylbenzyl nhôm clorua; hexamethonium clorua; benzalkonium clorua; benzethonium clorua; phenol, butyl hoặc benzyl alcohol; các alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; cyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); các polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); các protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc các globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; các monosaccharit, các disaccharit, và các cacbohydrat khác bao gồm glucoza, mannoza, hoặc các dextrin; các tác nhân tạo càng như EDTA; các đường như sucroza, mannitol, trehaloza hoặc sorbitol; các muối tạo ion ngược như natri; các phức hợp kim loại (ví dụ, các phức hợp Zn-protein); và/hoặc các chất có hoạt tính bề mặt không ion như polyetylen glycol (PEG). Các thể vẩn tiêm chứa nước có thể chứa các hợp chất mà tăng tính dính của thể vẩn, như natri cacboxymetyl celluloza, sorbitol, dextran, hoặc tương tự. Tùy ý, thể vẩn cũng có thể chứa các chất ổn định phù hợp hoặc các tác nhân mà tăng tính tan của các hợp chất để cho phép điều chế các dung dịch được cô đặc cao. Bổ sung thêm, các thể vẩn của các hợp chất hoạt tính có thể được điều chế như các thể vẩn tiêm như dầu thích hợp. Các dung môi hoặc dịch truyền thu hút bởi chất mỡ phù hợp bao gồm các dầu béo như dầu vừng, hoặc các este của axit béo tổng hợp, như các etyl cleat hoặc các triglycerit, hoặc các liposom.

Các thành phần hoạt tính có thể được đặt trong các vi nang được điều chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật giọt tụ hoặc bằng sự trùng hợp xen kẽ, ví dụ, hydroxymetylceluloza hoặc các vi nang gelatin và các vi nang poly-(metylmetacylat) tương ứng, trong các hệ phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, các liposom, các vi cầu albumin, các vi nhũ tương, các hạt nano và các viên nang nano) hoặc trong các nhũ tương thể lớn. Các kỹ thuật này được bộc lộ trong

Remington's Pharmaceutical Sciences (18th Ed. Mack Printing Company, 1990). Các chế phẩm giải phóng được duy trì có thể được điều chế. Các ví dụ phù hợp về các chế phẩm giải phóng được duy trì bao gồm các thể mẹ bán thấm của các polyme kỵ nước rắn có chứa polypeptit, trong đó các thể mẹ ở dạng các vật phẩm có hình dạng được định rõ, ví dụ các bao phim, hoặc các vi nang. Các phương án cụ thể là, sự hấp thu được kéo dài của chế phẩm có thể tiêm có thể được gây ra bởi việc sử dụng trong các chế phẩm của các tác nhân trì hoãn sự hấp thu, như, ví dụ, nhôm monostearat, gelatin hoặc các sự kết hợp của chúng.

Bổ sung cho các chế phẩm được mô tả trước, các thể tiếp hợp miễn dịch cũng có thể được tạo thành như một chế phẩm chứa. Các chế phẩm hoạt động dài này có thể được cung cấp bằng cách trồng (ví dụ, dưới da hoặc trong cơ) hoặc bằng cách tiêm trong cơ. Do đó, ví dụ, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch có thể được tạo công thức với các vâlt liệu polymer hoặc kỵ nước phù hợp (ví dụ, như một nhũ tương trong dầu thích hợp) hoặc các gốc trao đổi ion, hoặc như các dẫn xuất có thể hòa tan qua, ví dụ, như muối có thể hòa tan qua.

Các chế phẩm dược bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được sản xuất bằng các quy trình trộn, hòa tan, nhũ hóa, gói gọn, đặt hoặc làm đông khô thông thường. Các chế phẩm dược có thể được tạo công thức theo cách thông thường nhờ sử dụng một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, tá dược hoặc chất bổ trợ dược lý dụng tạo điều kiện thuận lợi để xử lý của các protein trong các chế phẩm mà có thể được sử dụng dược. Chế phẩm thích hợp phụ thuộc vào tuyến cung cấp được chọn.

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch có thể được tạo công thức trong chế phẩm ở dạng axit hoặc bazơ tự do, trung tính hoặc muối. Các muối dược dụng là các muối mà về cơ bản giữ lại hoạt hóa sinh học của axit hoặc bazơ tự do. Chúng bao gồm các muối cộng axit, ví dụ, các muối được tạo thành với các nhóm amino tự do của chế phẩm có protein, hoặc trong đó được tạo thành với các axit vô cơ như ví dụ, các axit hydrocloric hoặc

phosphoric, hoặc các axit hữu cơ này như axit axetic, oxalic, tartaric hoặc mandelic. Các muối được tạo thành với các nhóm cacboxyl tự do cũng có thể có nguồn gốc từ các bazơ vô cơ như ví dụ, natri, kali, amôniac, canxi hoặc các hydroxit chứa sắt; hoặc các bazơ hữu cơ này như isopropylamin, trimetylamin, Histidin hoặc procain. Các muối dược hướng đến sự hòa tan trong các dung môi protic khác và chứa nước hơn các dạng bazơ tự do tương ứng.

Các phương pháp điều trị và các chế phẩm

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch bất kỳ được cung cấp ở đây có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị. Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được sử dụng như các tác nhân điều trị miễn dịch, ví dụ khi điều trị các bệnh ung thư.

Để sử dụng trong các phương pháp điều trị, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế được tạo công thức, được tạo liều, và được cung cấp theo kiểu phù hợp với thực tiễn dược thích hợp. Các nhân tố để xem xét về nội dung này bao gồm rối loạn cụ thể đang được điều trị, động vật có vú cụ thể đang được điều trị, tình trạng lâm sàng của từng bệnh nhân, nguyên nhân rối loạn, vị trí của của tác nhân phân phối, phương pháp cung cấp, lịch trình cung cấp, và các nhân tố khác đã biết đối với các dược sĩ.

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế là hữu ích trong điều trị các tình trạng bệnh nơi sự kích thích của hệ miễn dịch của vật chủ là có ích, cụ thể là các tình trạng trong đó sự đáp ứng miễn dịch tế bào được nâng cao là đáng mong muốn. Chúng có thể bao gồm các tình trạng bệnh trong đó đáp ứng miễn dịch vật chủ là không đủ hoặc thiếu. Các tình trạng bệnh để trong đó các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được cung cấp bao gồm, ví dụ, khối u hoặc nhiễm trùng trong đó đáp ứng miễn dịch tế bào sẽ là cơ chế then chốt cho sự miễn dịch cụ thể. Các tình trạng bệnh cụ thể để trong đó các đột biến IL-2 của sáng chế có thể được sử dụng bao gồm bệnh ung thư, ví dụ ung thư biểu mô tế

bào thận hoặc khối u ác tính; thiếu hụt miễn dịch, đặc biệt là ở các bệnh nhân dương tính HIV, các bệnh nhân được ngăn chặn miễn dịch, nhiễm trùng mãn tính và tương tự. Các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được cung cấp tự nó hoặc trong chế phẩm dược phù hợp bất kỳ.

Theo một khía cạnh, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế sử dụng như dược phẩm được cung cấp. Theo các khía cạnh nữa, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh được cung cấp. Theo các phương án nhất định, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị được cung cấp. Theo một phương án, sáng chế cung cấp a polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh ở một cá thể cần chúng. Theo các phương án nhất định, sáng chế cung cấp a polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch để sử dụng trong phương pháp điều trị một cá thể mắc bệnh bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng điều trị hữu hiệu của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch. Theo các phương án nhất định, bệnh cần được điều trị là rối loạn tăng sinh. Theo phương án được ưu tiên, bệnh là bệnh ung thư. Theo các phương án nhất định, phương pháp còn bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng điều trị hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung, ví dụ, tác nhân kháng bệnh ung thư nếu bệnh cần được điều trị là bệnh ung thư. Theo các phương án khác, sáng chế cung cấp polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch để sử dụng trong kích thích hệ miễn dịch. Theo các phương án nhất định, sáng chế cung cấp polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch để sử dụng trong phương pháp kích thích hệ miễn dịch ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch để kích thích hệ miễn dịch. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên là động vật có vú, tốt hơn là người. "Sự kích thích của hệ miễn dịch" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể bao gồm một hoặc nhiều sự tăng nói chung về chức năng miễn dịch bất kỳ, tăng về tế bào T

chức năng, tăng về chức năng tế bào B, sự phục hồi về chức năng limphô bào, tăng về sự biểu hiện của thụ thể IL-2s, tăng về sự đáp ứng tế bào T, tăng về hoạt tính nhận dạng và tiêu diệt vi trùng hoặc tiêu diệt sự hoạt hóa tế bào bạch cầu kích hoạt hoạt tính (LAK), và tương tự.

Theo một khía cạnh nữa, sáng chế cung cấp để sử dụng polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế trong sản xuất hoặc điều chế dược phẩm dùng để điều trị bệnh ở một cá thể cần chúng. Theo một phương án, dược phẩm là để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh bao gồm việc cung cấp cho cá thể mắc bệnh một lượng điều trị hữu hiệu dược phẩm. Theo các phương án nhất định, bệnh cần được điều trị là rối loạn tăng sinh. Theo một phương án ưu tiên, bệnh là bệnh ung thư. Theo phương án này, phương pháp còn bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng điều trị hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung, ví dụ, tác nhân kháng bệnh ung thư nếu bệnh cần được điều trị là bệnh ung thư. Theo một phương án nữa, dược phẩm là để kích thích hệ miễn dịch. Theo một phương án nữa, dược phẩm là để sử dụng trong phương pháp kích thích hệ miễn dịch ở một cá thể bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của dược phẩm để kích thích hệ miễn dịch. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là động vật có vú, tốt hơn là người. "Sự kích thích của hệ miễn dịch" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể bao gồm một hoặc nhiều sự tăng chung bất kỳ về chức năng miễn dịch, tăng về tế bào T chức năng, tăng về chức năng tế bào B, sự phục hồi của chức năng limphô bào, tăng về sự biểu hiện của thụ thể IL-2s, tăng về sự đáp ứng tế bào T, tăng về hoạt tính nhận dạng và tiêu diệt vi trùng hoặc tiêu diệt sự hoạt hóa tế bào bạch cầu kích hoạt hoạt tính (LAK), và tương tự.

Theo một khía cạnh nữa, sáng chế cung cấp phương pháp để điều trị bệnh ở một cá thể, bao gồm việc cung cấp cho cá thể này một lượng điều trị hữu hiệu của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế. Theo một phương án, chế phẩm được cung cấp cho cá thể này, bao gồm polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế ở dạng dược dụng. Theo các phương án nhất định, bệnh cần được điều trị là bệnh rối loạn tăng sinh. Theo

một phương án ưu tiên, bệnh là bệnh ung thư. Theo các phương án nhất định, phương pháp còn bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng điều trị hữu hiệu của ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung, ví dụ, tác nhân kháng bệnh ung thư nếu bệnh cần được điều trị là bệnh ung thư. Theo một khía cạnh nữa, sáng chế cung cấp phương pháp để kích thích hệ miễn dịch ở một cá thể, bao gồm việc cung cấp cho cá thể một lượng hữu hiệu của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch để kích thích hệ miễn dịch. "Cá thể" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể là động vật có vú, tốt hơn là người. "Sự kích thích của hệ miễn dịch" theo các phương án bất kỳ nêu trên có thể bao gồm một hoặc nhiều sự tăng toàn bộ về chức năng miễn dịch bất kỳ, tăng về chức năng tế bào T, tăng về chức năng tế bào B, sự phục hồi của chức năng limphô bào, tăng về sự biểu hiện của các thụ thể IL-2s, tăng về sự đáp ứng tế bào T, tăng về hoạt tính nhận dạng và tiêu diệt vi trùng hoặc tiêu diệt sự hoạt hóa tế bào bạch cầu kích hoạt hoạt tính (LAK) và tương tự.

Cần hiểu rằng các phương pháp điều trị bất kỳ nêu trên có thể được thực hiện nhờ sử dụng thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế thay thế cho hoặc bổ sung cho polypeptit IL-2 đột biến.

Theo các phương án nhất định, bệnh cần được điều trị là bệnh rối loạn tăng sinh, tốt hơn là bệnh ung thư. Các ví dụ không giới hạn về các bệnh ung thư bao gồm ung thư bàng quang, ung thư não, ung thư đầu và cổ, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư tử cung, ung thư cổ, ung thư màng trong dạ con, bệnh ung thư thực quản, ung thư ruột kết, ung thư ruột kết và trực tràng, ung thư trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư máu, ung thư da, ung thư biểu mô phổi hình vảy, ung thư xương, và ung thư thận. Các rối loạn tăng sinh tế bào khác có thể được xử lý bằng cách sử dụng polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các khối u có ở: bụng, xương, vú, hệ tiêu hóa, gan, tuyến tụy, phúc mạc, các tuyến nội tiết (thượng thận, tuyến cận giáp, tuyến yên, tinh hoàn, buồng trứng, tuyến úc, tuyến giáp), mắt, đầu và cổ, hệ thần kinh (trung ương và ngoại vi), hệ bạch huyết, khung xương chậu, da, mô mềm, lá

lách, vùng ngực, và hệ niệu-sinh dục. Cũng được bao gồm là các tình trạng trước bệnh ung thư hoặc các vết thương và các metastaza bệnh ung thư. Theo các phương án nhất định, bệnh ung thư được chọn từ nhóm bao gồm ung thư tế bào thận, ung thư da, ung thư phổi, ung thư ruột kết và trực tràng, vú ung thư, ung thư não, ung thư đầu và cổ. Tương tự, các rối loạn tăng sinh tế bào khác cũng có thể được điều trị bằng các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế. Các ví dụ về các rối loạn tăng sinh tế bào này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: hypergammaglobulinemia, các rối loạn tăng sinh lympho, paraproteinemias, ban xuất huyết, bệnh nổi khối u, hội chứng Sezary, đại globulin huyết Waldenstron, bệnh Gaucher, histiocytosis, và bệnh tăng sinh tế bào khác, ngoài sự hình thành khối u, được đặt trong một hệ cơ quan được liệt kê ở trên. Theo một phương án khác, bệnh có liên quan đến sự tự miễn dịch, sự thải bỏ cấy ghép, các đáp ứng miễn dịch sau chấn thương và các bệnh lây nhiễm (ví dụ, HIV). Cụ thể hơn là, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch có thể được sử dụng khi loại bỏ các tế bào được bao gồm trong các rối loạn trung gian tế bào miễn dịch, bao gồm ung thư hệ bạch huyết; sự tự miễn dịch, sự loại bỏ cấy ghép, bệnh vật chủ chống lại mô ghép, chứng thiết máu cục bộ và đột quỵ. Một chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật dễ dàng nhận biết rằng trong nhiều trường hợp các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch có thể không cung cấp sự chữa bệnh mà chỉ có thể cung cấp một phần lợi ích. Theo một vài phương án, sự thay đổi sinh lý có một số lợi ích cũng được coi là có lợi về mặt điều trị. Do đó, theo một vài phương án, lượng polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch cung cấp sự thay đổi sinh lý được coi là "lượng hữu hiệu" hoặc "lượng điều trị hữu hiệu". Đối tượng, bệnh nhân, hoặc cá thể có nhu cầu điều trị cụ thể là động vật có vú, cụ thể hơn là người.

Các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế cũng hữu ích như các phản ứng chẩn đoán. Sự gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch với sự xác định kháng nguyên có thể được phát hiện dễ dàng bằng cách sử dụng kháng thể thứ cấp đặc trưng về IL-2 polypeptit. Theo một phương án, kháng thể thứ cấp và thể tiếp hợp miễn

dịch làm cho dễ dàng phát hiện sự gắn kết của thể tiếp hợp miễn dịch với sự xác định kháng nguyên được đặt trên tế bào hoặc mô bề mặt.

Theo một vài phương án, lượng hữu hiệu của các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế được cung cấp cho tế bào. Theo các phương án khác, lượng điều trị hữu hiệu của các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế được cung cấp cho cá thể để điều trị bệnh.

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, liều thích hợp của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế (khi được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị bổ sung khác) sẽ phụ thuộc vào loại bệnh cần được điều trị, tuyến cung cấp, trọng lượng cơ thể của bệnh nhân, loại polypeptit (ví dụ, IL-2 không được tiếp hợp hoặc thể tiếp hợp miễn dịch), tính nghiêm trọng và nguyên nhân của bệnh, dù kháng thể được cung cấp cho các mục đích ngăn ngừa hoặc điều trị, trước hoặc cùng lúc với các can thiệp điều trị, lịch sử lâm sàng của bệnh nhân và sự đáp ứng với polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch, và quyết định của bác sỹ điều trị. Bác sỹ chịu trách nhiệm cung cấp sẽ, theo từng sự kiện, xác định nồng độ của các thành phần hoạt tính trong chế phẩm và các liều thích hợp đối với từng đối tượng. Chương trình cung cấp liều khác nhau bao gồm nhưng không bị giới hạn ở các cung cấp riêng rẽ hoặc nhiều liều vào các thời điểm khác nhau, cung cấp viên thuốc to, và truyền mạch được đưa ra ở đây.

Sự cung cấp đơn lẻ của IL-2 không được tiếp hợp có thể nằm trong phạm vi từ khoảng 50.000 IU/kg đến khoảng 1.000.000 IU/kg hoặc lớn hơn, cụ thể hơn là khoảng 600.000 IU/kg của IL-2. Sự cung cấp này có thể được lặp lại vài lần mỗi ngày (ví dụ, 2-3 lần), trong vài ngày (ví dụ, khoảng 3-5 ngày liên tiếp) và sau đó có thể được lặp lại một hoặc nhiều lần sau một khoảng thời gian ngừng lại (ví dụ, khoảng 7-14 ngày). Do đó, lượng điều trị hữu hiệu có thể chỉ bao gồm việc cung cấp đơn lẻ hoặc nhiều lần cung cấp hơn trong một khoảng thời gian (ví dụ, khoảng 20-30 cá thể cung cấp khoảng 600.000 IU/kg của mỗi

IL-2 cho hơn giai đoạn khoảng 10-20 ngày). Khi được cung cấp ở dạng thể tiếp hợp miễn dịch, hiệu quả điều trị của polypeptit IL-2 đột biến có thể thấp hơn đối với polypeptit IL-2 đột biến không được tiếp hợp.

Tương tự, thể tiếp hợp miễn dịch được cung cấp phù hợp cho bệnh nhân ở một lần hoặc qua một chuỗi điều trị. Tùy thuộc vào loại và tính nghiêm trọng của bệnh, khoảng 1 µg/kg đến 15 mg/kg (ví dụ 0,1 mg/kg - 10 mg/kg) của thể tiếp hợp miễn dịch có thể là liều đưa ra ban đầu để cung cấp cho bệnh nhân, mặc dù, ví dụ, bằng các cung cấp một lần hoặc nhiều lần riêng rẽ, hoặc bằng cách hợp nhất liên tiếp. Một liều hằng ngày điển hình có thể nằm trong phạm vi từ khoảng 1 µg/kg đến 100 mg/kg hoặc lớn hơn, tùy thuộc vào các nhân tố nêu trên. Đối với các cung cấp lặp lại qua vài ngày hoặc dài hơn, tùy thuộc vào tình trạng bệnh, sự điều trị nhìn chung sẽ được đổi màu đến khi sự ngăn chặn mong muốn các triệu chứng bệnh xảy ra. Một liều mẫu của thể tiếp hợp miễn dịch sẽ nằm trong phạm vi từ khoảng 0,005 mg/kg đến khoảng 10 mg/kg. Theo các ví dụ không giới hạn khác, liều cũng có thể bao gồm từ khoảng 1 µgµg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 5 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 10 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 50 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 100 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 200 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 350 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 500 µg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 1 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 5 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 10 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 50 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 100 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 200 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 350 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 500 mg/kg/trọng lượng cơ thể, đến khoảng 1000 mg/kg/trọng lượng cơ thể hoặc lớn hơn cho mỗi lần cung cấp, và nằm trong phạm vi có thể suy luận bất kỳ từ đó. Theo các ví dụ không giới hạn về phạm vi có thể suy luận từ các số lượng được liệt kê ở đây, nằm trong phạm vi khoảng 5 mg/kg/trọng lượng cơ thể đến khoảng 100 mg/kg/trọng lượng cơ thể, khoảng 5 µg/kg/trọng lượng cơ thể đến khoảng 500 mg/kg/trọng lượng cơ thể, v.v., có thể được cung cấp, dựa vào số lượng được mô tả ở trên. Do đó, một hoặc nhiều liều của khoảng 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg hoặc 10 mg/kg (hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng) có thể

được cung cấp cho bệnh nhân. Các liều này có thể được cung cấp không liên tục, ví dụ hằng tuần hoặc hằng ba tuần (ví dụ, để bệnh nhân tiếp nhận từ khoảng hai đến khoảng hai mươi, hoặc ví dụ khoảng sáu liều của thể tiếp hợp miễn dịch). Liều nạp cao hơn ban đầu, tiếp theo bằng một hoặc nhiều liều thấp hơn có thể được cung cấp. Tuy nhiên, các chế độ liều khác có thể là hữu ích. Tiến trình điều trị này được giám sát dễ dàng bằng các kỹ thuật và các thử nghiệm thông thường.

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế nhìn chung sẽ được sử dụng ở lượng hữu hiệu để đạt được mục đích dự tính. Để sử dụng điều trị hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh, các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế, hoặc các chế phẩm dược của chúng, được cung cấp hoặc được áp dụng ở lượng điều trị hữu hiệu. Việc xác định lượng điều trị hữu hiệu là cũng thuộc khả năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, đặc biệt là trạng thái bộc lộ chi tiết được cung cấp ở đây.

Để cung cấp cho cơ thể, liều điều trị hữu hiệu có thể được ước lượng ban đầu từ các thử nghiệm *in vitro*, như các thử nghiệm nuôi cấy tế bào. Sau đó, liều có thể được tạo công thức ở các kiểu động vật để đạt được nồng độ tuần hoàn nằm trong phạm vi bao gồm IC_{50} như được xác định khi nuôi cấy tế bào. Thông tin này có thể được sử dụng để xác định chính xác hơn các liều hữu ích ở người.

Các liều ban đầu cũng có thể được ước tính từ dữ liệu *in vivo*, ví dụ, các kiểu động vật, sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể dễ dàng tối ưu hóa việc cung cấp cho người dựa vào dữ liệu động vật.

Lượng liều và thời gian liều có thể được điều chỉnh riêng rẽ để cung cấp các mức huyết tương của các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch đủ để duy trì hiệu quả điều trị. Các liều bệnh nhân thông thường để cung cấp bằng cách tiêm nằm trong phạm vi từ khoảng 0,1 đến 50 mg/kg/ngày, cụ thể từ khoảng 0,5 đến 1 mg/kg/ngày. Các mức huyết tương điều

trị hữu hiệu có thể đạt được bằng việc cung cấp nhiều liều mỗi ngày. Các mức trong huyết tương có thể được đo, ví dụ, bằng HPLC.

Trong các trường hợp cung cấp cục bộ hoặc thu hút chọn lọc, nồng độ cục bộ hữu hiệu của các thể tiếp hợp miễn dịch có thể không liên quan đến nồng độ huyết tương. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ có thể tối ưu hóa các liều cục bộ điều trị hữu hiệu mà không thử nghiệm quá mức.

Liều điều trị hữu hiệu của các polypeptit interleukin-2 đột biến hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch được mô tả ở đây nhìn chung sẽ cung cấp lợi ích về mặt điều trị mà không gây ra độc tính đáng kể. Độc tính và hiệu quả điều trị của IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch có thể được xác định bằng các quy trình dược chuẩn khi nuôi cấy tế bào hoặc các động vật thử nghiệm (xem, ví dụ, các Ví dụ 8 và 9). Các thử nghiệm nuôi cấy tế bào và các nghiên cứu động vật có thể được sử dụng để xác định LD_{50} (liều gây chết đến 50% quần thể) và ED_{50} (liều hữu hiệu về mặt điều trị trong 50% quần thể). Tỷ lệ liều giữa các hiệu quả về mặt điều trị và độc là chỉ số điều trị, trong đó có thể được biểu hiện như tỷ lệ LD_{50}/ED_{50}. Các đột biến IL-2 và các thể tiếp hợp miễn dịch biểu hiện các chỉ số điều trị lớn được ưu tiên. Theo một phương án, polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế biểu hiện chỉ số điều trị cao. Dữ liệu đã thu được từ các thử nghiệm nuôi cấy tế bào và các nghiên cứu động vật có thể được sử dnjg khi tạo công thức nằm trong phạm vi của các liều phù hợp để sử dụng ở người. Tốt hơn là, liều được chấp nhận nằm trong phạm vi của các nồng độ lưu thông bao gồm ED_{50} không hoặc ít độc tính. Liều có thể thay đổi trong phạm vi này tùy thuộc vào các nhân tố khác nhau, ví dụ, dạng liều được sử dụng, tuyến cung cấp được sử dụng, tình trạng của đối tượng và tương tự. Chế phẩm, tuyến cung cấp và liều chính xác có thể được chọn bởi từng bác sỹ khi xem xét tình trạng của bệnh nhân. (xem, ví dụ, Fingl et al., 1975, In: The Pharmacological Basis củarapeutics, Ch. 1, p. 1, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung).

Bác sỹ đang điều trị cho các bệnh nhân cần được điều trị bằng các đột biến IL-2 hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế sẽ biết tiến hành thế nào và như để chấm dứt, phá vỡ, hoặc điều chỉnh việc cung cấp do độc tính, hoạt động bất thường của một bộ phận cơ thể và tương tự. Ngược lại, bác sỹ đang điều trị cũng biết điều chỉnh việc điều trị với các mức cao hơn nếu sự đáp ứng về mặt lâm sàng là không thích hợp (ngăn ngừa độc tính). Lượng liều được cung cấp khi xử lý rối loạn liên quan sẽ thay đổi cùng với tính nghiêm trọng của tình trạng cần được điều trị, với tuyến cung cấp, và tương tự. Tính nghiêm trọng của tình trạng có thể, ví dụ, được đánh giá, từng phần, bằng các phương pháp ước định tiên lượng tiêu chuẩn. Hơn nữa, liều và tần suất liều có thể cũng sẽ thay đổi theo độ tuổi, trọng lượng cơ thể, và sự đáp ứng của từng bệnh nhân.

Liều điều trị tối đa của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm polypeptit này có thể được tăng từ liều được sử dụng cho IL-2 dạng tự nhiên hoặc thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 dạng tự nhiên, tương ứng.

Các tác nhân và điều trị khác

Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế có thể được cung cấp kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân khác khi điều trị. Ví dụ, polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể được cung cấp đồng thời với ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Thuật ngữ "tác nhân điều trị" chứa tác nhân bất kỳ được cung cấp để điều trị một triệu chứng hoặc bệnh ở một cá thể cần sự điều trị này. Tác nhân điều trị bổ sung này có thể bao gồm các thành phần hoạt tính bất kỳ phù hợp với dấu hiệu cụ thể cần được điều trị, tốt hơn là chúng có các hoạt tính bổ trợ mà không gây tác động bất lợi cho nhau. Theo các phương án nhất định, tác nhân điều trị bổ sung là tác nhân điều biến miễn dịch, tác nhân kìm hãm tế bào, chất ức chế sự kết dính tế bào, tác nhân gây hại tế bào, chất hoạt hóa sự tự gây chết tế bào của tế bào, hoặc tác nhân làm tăng độ nhạy của các tế bào đến các chất dẫn apoptotic. Theo một phương án cụ thể, tác nhân điều trị bổ sung là tác nhân kháng bệnh ung thư, ví dụ tác nhân phá hủy vi ống, thuốc kháng trao đổi chất,

chất ức chế topoisomeraza, tác nhân trộn hợp ADN, tác nhân alkyl hóa, liệu pháp hormon, chất ức chế kinaza, chất đối kháng thụ thể, chất hoạt hóa của sự tự gây chết tế bào khối u của tế bào, hoặc tác nhân kháng hình thành mạch.

Các tác nhân khác này có mặt phù hợp khi kết hợp với các lượng hiệu quả cho mục đích dự tính. Lượng hữu hiệu của các tác nhân khác này phụ thuộc vào số lượng của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch được sử dụng, loại rối loạn hoặc điều trị, và các nhân tố khác đã nêu ở trên. Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch nhìn chung được sử dụng theo các liều và với các tuyến cung cấp giống nhau theo sáng chế, hoặc khoảng từ 1 đến 99% của các liều được mô tả ở đây, hoặc theo liều bất kỳ và bằng tuyến bất kỳ được xác định về mặt lâm sàng hoặc theo kinh nghiệm để phù hợp.

Các liệu pháp kết hợp này được quan sát ở trên bao gồm việc cung cấp kết hợp (trong đó hai hoặc nhiều tác nhân điều trị được bao gồm trong cùng chế phẩm hoặc trong các chế phẩm riêng rẽ), và cung cấp riêng rẽ, trong trường hợp, sự cung cấp của polypeptit IL-2 đột biến hoặc thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế có thể xảy ra trước, đồng thời, và/hoặc sau, sự cung cấp của tác nhân điều trị bổ sung và/hoặc tá dược. Các polypeptit interleukin-2 đột biến và các thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với phương pháp điều trị phóng xạ.

Các vật phẩm sản xuất

Theo khía cạnh khác của sáng chế, vật phẩm sản xuất có chứa các vật liệu hữu ích để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán các rối loạn được mô tả ở trên được cung cấp. Vật phẩm sản xuất bao gồm bình chứa và nhãn hoặc gói chèn vào hoặc được kết hợp với bình chứa. Các bình chứa phù hợp bao gồm, ví dụ, các chai, lọ, ống tiêm, các túi dung dịch IV, v.v.. Các bình chứa có thể được tạo thành từ nhiều vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo. Bình chứa chứa chế phẩm trong chính bình chứa hoặc được kết hợp với chế phẩm khác để điều trị hiệu quả, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán tình trạng và có thể có cổng truy nhập vô trùng (ví dụ, bình chứa có thể là túi dung dịch trong tĩnh mạch hoặc lọ có một

nút có thể xuyên thủng bằng kim tiêm tiêm dưới da). Ít nhất một tác nhân hoạt tính trong chế phẩm là polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế. Nhãn hoặc gói chèn chỉ báo rằng chế phẩm được sử dụng để điều trị tình trạng lựa chọn. Hơn nữa, vật phẩm sản xuất có thể bao gồm (a) bình chứa thứ nhất có chế phẩm được chứa trong đó, trong đó chế phẩm bao gồm polypeptit IL-2 đột biến của sáng chế; và (b) bình chứa thứ hai có chế phẩm được chứa trong đó, trong đó chế phẩm còn bao gồm tác nhân điều trị gây hại tế bào hoặc tác nhân khác. Vật phẩm sản xuất theo phương án này của sáng chế còn có thể bao gồm một gói chèn chỉ báo rằng các chế phẩm có thể được sử dụng để xử lý một tình trạng cụ thể. Ngoài ra, hoặc bổ sung thêm, vật phẩm sản xuất còn có thể bao gồm bình chứa thứ hai (hoặc thứ ba) bao gồm đệm dược dụng, như nước kìm hãm vi khuẩn để tiêm (BWFI), huyết thanh nhân tạo đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó còn có thể bao gồm các vật liệu khác có thể mong muốn từ quan điểm thị trường và người sử dụng, bao gồm các đệm, các chất pha loãng, các chất lọc, các kim và các ống tiêm khác.

Cần hiểu rằng các vật phẩm sản xuất bất kỳ nêu trên có thể bao gồm thể tiếp hợp miễn dịch của sáng chế để thay thế hoặc thêm vào polypeptit IL-2 đột biến.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây là các ví dụ về các phương pháp và các chế phẩm của sáng chế. Cần hiểu rằng các phương án khác nhau có thể được thực hiện dựa vào phần mô tả chung được đề cập ở trên.

Ví dụ 1

Các phương pháp chung

Các kỹ thuật tái tổ hợp ADN

Các phương pháp tiêu chuẩn được sử dụng để thao tác ADN như được mô tả trong Sambrook et al., Molecular nhân bản: A LABORATORY manual; Cold Spring Harbor LABORATORY Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989.

Các phản ứng sinh học phân tử thường được sử dụng theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Thông tin chung về các trình tự nucleotit của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các globulin miễn dịch người được đưa ra trong: Kabat, E.A. et al., (1991) Sequences of Các protein of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No 91-3242.

Sự sắp xếp trình tự ADN

Các trình tự ADN được xác định bởi sự sắp xếp trình tự mạch kép.

Sự tổng hợp gen

Các đoạn gen mong muốn ở đó bắt buộc hoặc được tạo ra bằng PCR sử dụng các mẫu thích hợp hoặc được tổng hợp bằng Geneart AG (Regensburg, Germany) từ các oligonucleotit tổng hợp và các sản phẩm PCR bằng sự tổng hợp gen tự động. Trong các trường hợp nơi không có sẵn trình tự gen chính xác, oligonucleotit primers được thiết kế dựa vào các trình tự từ các chất đồng đẳng và các gen gần nhất được phân lập bởi RT-PCR từ ARN bắt nguồn từ mô thích hợp. Các đoạn gen được đi vòng bởi các vị trí phân tách endonucleaza giới hạn duy nhất được vô tính trong các vectơ nhân bản/so sánh trình tự tiêu chuẩn. ADN plasmit được tinh chế từ các vi khuẩn được biến và được xác định nồng độ bởi quang phổ UV. Trình tự ADN của các đoạn gen được nhân dòng phụ được xác nhận bởi so sánh trình tự ADN. Các đoạn gen được thiết kế với các vị trí hạn chế phù hợp để cho phép nhân bản phụ trong các vectơ biểu hiện tương ứng. Tất cả các cấu trúc được thiết kế với trình tự đầu 5'ADN mã hóa đối với peptit dẫn đầu hướng đích các protein để bài tiết trong các tế bào eukaryotic. SEQ ID NO 263-273 đưa ra các peptit dẫn đầu làm mẫu và các trình tự polynucleotit mã hóa chúng.

Điều chế các hợp nhất IL-2R βγ đơn vị con-Fc và hợp nhất IL-2R α đơn vị con Fc

Để nghiên cứu thụ thể IL-2 ái lực gắn kết, một dụng cụ được tạo ra cho phép biểu hiện về thụ thể IL-2 dị dime; đơn vị con β- của Thụ thể IL-2 được hợp nhất với phân tử Fc được sử dụng kỹ thuật di truyền học để dị dime hóa (Fc(lỗ

khóa)) (xem các SEQ ID NO 274 và 275) bằng cách sử dụng kỹ thuật "chìa khóa-trong-lỗ khóa" (Merchant et al., Nat Biotech. 16, 677-681 (1998)). Đơn vị con γ- của Thụ thể IL-2 sau đó được hợp nhất với biến thể Fc(chìa khóa) (xem các SEQ ID NO 276 và 277), mà được dị dime hóa với Fc(lỗ khóa). Sau đó, protein hợp nhất Fc- dị dime này được sử dụng như một thể nền để phân tích sự tương tác IL-2/thụ thể IL-2. Nhóm nhỏ α IL-2R được biểu hiện như chuỗi monome với một vị trí phân tách AcTev và một đích Avi His (các SEQ ID NO 278 và 279). Các đơn vị con IL-2R tương ứng được biểu hiện tạm thời trong HEK EBNA 293 với huyết thanh cho cấu trúc đơn vị con βγ IL-2R và không có huyết thanh cho cấu trúc nhóm nhỏ α. Cấu trúc đơn vị con βγ IL-2R được tinh chế trên protein A (GE Healthcare), tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (GE Healthcare, Superdex 200). Nhóm nhỏ α IL-2R được tinh chế qua đích His trên cột NiNTA (Qiagen) tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (GE Healthcare, Superdex 75).

Điều chế các thể tiếp hợp miễn dịch

Các chi tiết về sự điều chế và tinh chế của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab, bao gồm sự phát sinh và sự trưởng thành ái lực của gốc liên kết kháng nguyên có thể được phát hiện trong các ví dụ trong WO 2011/020783, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung. Như được mô tả tở đây, các miền gắn kết kháng nguyên khác nhau hướng đích FAP đã được tạo ra bằng sự biểu thị thể thực khuẩn, bao gồm các miền 4G8, 3F2, 28H1, 29B11, 14B3, và 4B9 được định rõ này được sử dụng trong các ví dụ sau. 28H1 vô tính là kháng thể ái lực trưởng thành dựa vào 4G8 vô tính mẹ, trong khi các 29B11, 14B3 và 4B9 vô tính là các kháng thể ái lực trưởng thành dựa vào 3F2 vô tính mẹ. Miền gắn kết kháng nguyên MHLG1 KV9 được định rõ được sử dụng ở đây hướng đích MCSP.

Các trình tự của các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 dạng tự nhiên thường được sử dụng trong các ví dụ sau cũng có thể được tìm thấy trong WO 2011/020783. Các trình tự tương ứng với các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm

IL-2 đột biến bội bốn that thường được sử dụng trong các ví dụ sau là: 4G8: SEQ ID NO 211 và 233; 3F2: SEQ ID NO 209 và 231; 28H1: SEQ ID NO 219 và 233; 29B11: SEQ ID NO 221 và 231; 14B3: SEQ ID NO 229 và 231; 4B9: SEQ ID NO 227 và 231; MHLG1-KV9: SEQ ID NO 253 và 255. Các trình tự ADN được tạo ra bằng sự tổng hợp gen và/hoặc các kỹ thuật sinh học phân tử cụ thể và được nhân dòng phụ trong các vectơ biểu hiện động vật có vú (một cho chuỗi nhẹ và một cho chuỗi nặng/IL-2 hợp nhất protein) dưới đối chứng của chất tăng cường MPSV và ngược dòng vị trí polyA tổng hợp, mỗi vectơ mang một trình tự EBV OriP. Các thể tiếp hợp miễn dịch được áp dụng trong các ví dụ dưới đây được tạo ra bằng cách đồng truyền nhiễm theo hàm mũ các tế bào HEK293-EBNA tăng trưởng với các vectơ biểu hiện động vật có vú sử dụng sự truyền nhiễm canxi phosphat. Ngoài ra, các tế bào HEK293 tăng trưởng trong thể vẩn được truyền nhiễm bằng polyetylenimin (PEI) với các vectơ biểu hiện tương ứng. Ngoài ra, các bể tế bào CHO được truyền nhiễm hoặc các tế bào vô tính CHO ổn định được sử dụng để sản xuất trong môi trường giải phóng huyết thanh. Trong khi các cấu trúc FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 4G8 bao gồm dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) IL-2 đột biến có thể được tinh chế bằng ái lực sắc ký sử dụng thể mẹ protein A, các cấu trúc 28H1-gốc FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab ái lực trưởng thành được tinh chế bằng sắc ký ái lực trên thể mẹ protein G với quy mô nhỏ.

Tóm lại, FAP-hướng đích 28H1 Fab-IL-2-Fab, bao gồm dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) IL-2 đột biến, được tinh chế từ các dịch nổi nuôi cấy tế bào bằng một bước tinh chế ái lực (protein G) tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (Superdex 200, GE Healthcare). Cột protein G được làm cân bằng trong 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat pH 7,5, thể nổi được nạp, và cột được rửa bằng 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat pH 7,5. Fab-IL-2-Fab được giải hấp bằng 8,8 mM axit formic pH 3. Các phần được giải hấp được chia phần và được tinh sạch bằng sắc ký loại trừ kích thước trong đệm công thức cuối: 25 mM kali phosphat, 125 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 6,7. Các kết quả mẫu từ sự tinh chế và phân tích được đưa ra dưới đây.

FAP-hướng đích 3F2 Fab-IL-2-Fab hoặc 4G8 Fab-IL-2-Fab, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) đột biến, được tinh chế bằng phương pháp tương tự được bao gồm một bước ái lực sử dụng protein A tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (Superdex 200, GE Healthcare). Cột protein A được làm cân bằng trong 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat pH 7,5, thể nổi được tải, và cột được rửa bằng 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, 500 mM natri clorua pH 7,5, tiếp theo đó tiến hành rửa bằng 13,3 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, 500 mM natri clorua pH 5,45. Rửa một phần ba bằng 10 mM MES, 50 mM natri clorua pH 5 được thực hiện tùy ý. Fab-IL-2-Fab được tách rửa bằng 20 mM natri xitrat, 100 mM natri clorua, 100 mM glyxin, pH 3. Các phần được tách rửa được chia phần và tinh chế bóng bằng sắc ký loại trừ kích thước trong đệm công thức cuối cùng: 25 mM kali phosphat, 125 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 6,7. Các quy trình và các kết quả tinh chế chi tiết làm ví dụ được đưa ra cho các cấu trúc được chọn dưới đây.

Các protein hợp nhất FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm được tạo ra dựa vào các kháng thể FAP- 4G8, 4B9 và 28H1, trong đó một IL-2 bội bốn đột biến (qm) đơn được hợp nhất với đầu C- của một chuỗi nặng dị dime như được thể hiện ở Fig. 1B. Sự hướng đích tới chất đệm khối u nơi FAP được biểu hiện chọn lọc đạt được nhờ vùng kháng thể Fab có hóa trị hai (tác động ái lực). Sự dị dime hóa tạo ra với sự có mặt của IL-2 bội bốn đột biến đơn đạt được bằng sự áp dụng kỹ thuật chìa khóa-trong-lỗ khóa. Để giảm thiểu sự phát sinh của các hợp nhất IgG-xytokin đồng dime, xytokin được hợp nhất với đầu C (với việc loại bỏ của gốc Lys đầu C) của chìa khóa-có chứa chuỗi nặng IgG nhờ cầu nối G_4-$(SG_4)_2$- hoặc $(G_4S)_3$. Sự hợp nhất kháng thể-xytokin có các đặc tính như IgG. Để làm giảm sự gắn kết/chức năng phản ứng FcγR và ngăn chặn sự đồng hoạt hóa FcR, các sự biến đổi P329G L234A L235A (LALA) được đưa ra trong miền Fc. Các trình tự của các thể tiếp hợp miễn dịch này được đưa ra trong SEQ ID NO 297, 299 và 233 (28H1), SEQ ID NO 301, 303 và 231 (4B9), và SEQ ID NO 315, 317 và 233 (4G8)). Ngoài ra, protein hợp nhất CEA-hướng đích IgG-IL-2 qm và protein hợp nhất DP47GS không hướng đích IgG-IL-2 qm đối chứng trong đó IgG

không gắn kết với đích được định rõ được tạo ra. Các trình tự của các thể tiếp hợp miễn dịch này được đưa ra trong SEQ ID NO 305, 307 và 309 (DP47GS), và SEQ ID NO 319, 321 và 323 (CH1A1A).

Các cấu trúc IgG-IL-2 được tạo ra bằng sự biểu hiện tạm thời trong các tế bào HEK293 EBNA và về cơ bản được tinh chế như được mô tả ở trên đối với các cấu trúc Fab-IL-2-Fab. Tóm lại, các protein hợp nhất IgG-IL-2 được tinh chế bằng một bước ái lực với protein A (HiTrap ProtA, GE Healthcare) được làm cân bằng trong 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat pH 7,5. Sau khi nạp thể nổi, cột trước tiên được rửa bằng 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, pH 7,5 và sau đó được rửa bằng 13,3 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, 500 mM natri clorua, pH 5,45. Protein hợp nhất IgG-xytokin được tách rửa bằng 20 mM natri xitrat, 100 mM natri clorua, 100 mM glyxin, pH 3. Các phần được trung tính hóa và được chia phần và được tinh chế bằng sắc ký loại trừ kích thước (HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare) trong đệm công thức cuối cùng: 25 mM kali phosphat, 125 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 6,7. Các quy trình và các kết quả tinh chế chi tiết làm mẫu được đưa ra đối với các cấu trúc được chọn dưới đây. Nồng độ protein của các mẫu protein đã tinh chế được xác định bằng việc đo đạc mật độ quang học (OD) ở 280 nm, sử dụng hệ số tiêu hủy phân tử gam được tính dựa vào trình tự axit amin. Độ tinh khiết và trọng lượng phân tử của các thể tiếp hợp miễn dịch được phân tích bằng SDS-PAGE với sự có và không có mặt tác nhân khử (5 mM 1,4-dithiotreitol) và được đổi màu với Coomassie blue (SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen). Hệ keo NuPAGE® Pre-Cast (Invitrogen) được sử dụng theo các chỉ dẫn của nhà sản xuất (4-20% các keo Tris-glyxin hoặc 3-12% các keo Bis-Tris). Hàm lượng tổng của các mẫu thể tiếp hợp miễn dịch được phân tích sử dụng Superdex 200 10/300GL ngăn chặn cột-cỡ phân tích (GE Healthcare) trong 2 mM MOPS, 150 mM NaCl, 0,02% NaN_3, pH 7,3 đệm trượt ở 25°C.

FAP ái lực gắn kết

Sự gắn kết hoạt hóa FAP của các đoạn Fab chia tách được sử dụng trong các ví dụ này như gốc liên kết kháng nguyên được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) trên thiết bị Biacore. Tóm lại, kháng thể kháng His (Penta-His, Qiagen 34660) được giữ cố định trên các mạch CM5 để thu hút 10 nM FAP-His người, họ nhà chuột hoặc Xynomolgus (20 giây). Nhiệt độ là 25°C và HBS-EP được sử dụng như đệm. Nồng độ phân tích Fab là 100 nM xuống đến 0,41 nM (các bản sao) ở tốc độ dòng chảy là 50 µl/phút (sự kết hợp: 300 giây, sự phân ly: 600 giây (4B9, 14B3, 29B11, 3F2) hoặc 1200 giây (28H1, 4G8), sự tái sinh: 60 giây 10 mM glyxin pH 2). Việc điều chỉnh được thực hiện dựa vào kiểu gắn kết 1:1, RI=0, R tối đa=cục bộ (vì dạng thu hút). Bảng 2 đưa ra các ái lực đơn trị như được xác định bằng SPR.

Bảng 2. Ái lực (K_D) của các đoạn FAP-hướng đích Fab với FAP như được xác định bằng SPR.

K_D trong nM	FAP người	FAP Xynomolgus	FAP họ nhà chuột
4B9 Fab	0,3 0,31	0,23 0,24	5 5,2
14B3 Fab	0,47 0,47	0,61 0,59	4,7 4,7
29B11 Fab	0,19 0,19	0,21 0,2	1,3 1,2
3F2 Fab	6 6	4,7 5,3	8,9 9,5
28H1 Fab	2,6 2,6	3,7 3,7	0,13 0,18
4G8 Fab	53 (48 trạng thái ổn định) 51 (48 trạng thái ổn định)	33 (33 trạng thái ổn định) 35 (34 trạng thái ổn định)	0,07 0,07

Các thử nghiệm hoạt hóa sinh học với Các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 hướng đích

Sự hoạt hóa sinh học của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP- hoặc MCSP-hướng đích Fab-IL-2-Fab và của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2, bao gồm IL-2 đột biến dạng tự nhiên hoặc (bội bốn), được khám phá

trong một vài thử nghiệm tế bào khi so sánh với IL-2 có sẵn trên thị trường (Proleukin, Novartis, Chiron).

Sự giải phóng IFN-γ bởi các tế bào NK (trong dung dịch)

Các tế bào NK92 IL-2 để đói (100000 tế bào/giếng trong tấm 96-giếng-chữ U-) được nuôi cấy với các nồng độ khác nhau của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) đột biến, trong 24 giờ trong môi trường NK (MEM alpha từ Invitrogen (#22561-021) được bổ sung với 10% FCS, 10% huyết thanh ngựa, 0,1 mM 2-mercaptoetanol, 0,2 mM inositol và 0,02 mM axit folic). Các thể nổi được thu hoạch và sự giải phóng IFN-γ được phân tích nhờ sử dụng ELISA Kit II IFN-γ kháng người từ Becton Dickinson (#550612). Proleukin (Novartis) đóng vai trò như đối chứng dương tính cho sự hoạt hóa IL-2 thông qua các tế bào.

Sự tăng sinh tế bào NK

Máu từ những người tình nguyện khỏe mạnh được lấy trong các ống tiêm có chứa heparin và PBMCs được phân lập. Các tế bào NK người không được tiếp xúc được phân lập từ PBMCs nhờ sử dụng Kit II được phân lập tế bào NK người từ Miltenyi Biotec (#130-091-152). Sự biểu hiện CD25 của các tế bào được kiểm tra bằng sự đo đạc tế bào dòng chảy. Đối với các thử nghiệm tăng sinh, 20000 các tế bào NK người được phân lập được nuôi cấy trong 2 ngày trong bể nuôi cấy ẩm ở 37°C, 5 % CO_2 với sự có mặt của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 khác nhau, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) đột biến. Proleukin (Novartis) đóng vai trò như đối chứng. Sau 2 ngày, hàm lượng ATP của các dịch tế bào tế bào được đo nhờ sử dụng Thử nghiệm khả năng sống sót tế bào T phát quang cellTiter-Glo từ Promega (#G7571/2/3). Tỷ lệ sinh trưởng được tính toán thiết lập nồng độ Proleukin cao nhất đến 100 % sự tăng sinh và các tế bào không được xử lý không có sự kích thích IL-2 đến 0 % sự tăng sinh.

Thử nghiệm phosphoryl hóa STAT5

Máu từ những người tình nguyện khỏe mạnh được lấy trong các ống tiêm có chứa heparin và PBMCs được phân lập. Các PBMC được xử lý bằng các thể

tiếp hợp miễn dịch IL-2, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) đột biến, ở các nồng độ được biểu thị hoặc với Proleukin (Novartis) như đối chứng. Sau 20 phút nuôi cấy ở 37°C, PBMCs được cố định với đệm Cytofix được làm ấm trước (Becton Dickinson #554655) trong 10 phút ở 37°C, tiếp theo bằng cách đo khả năng thấm với đệm III Perm Phosflow (Becton Dickinson #558050) trong 30 phút ở 4°C. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS có chứa 0,1 % BSA trước khi FACS nhuộm màu được thực hiện nhờ sử dụng các hỗn hợp của các kháng thể sự đo đạc tế bào dòng chảy để phát hiện về quần thể các tế bào T khác và sự phosphoryl hóa của STAT5. Các mẫu được phân tích nhờ sử dụng FACSCantoII với HTS từ Becton Dickinson.

Các tế bào NK được xác định như các tế bào T $CD3^-CD56^+$, CD8 dương tính được xác định như các tế bào T $CD3^+CD8^+$, CD4 dương tính được xác định như các tế bào $CD4^+CD25^-CD127^+$ và T_{reg} được xác định như $CD4^+CD25^+FoxP3^+$.

Sự tăng sinh và AICD của các tế bào T

Máu từ những người tình nguyện khỏe mạnh được lấy ra trong các ống tiêm có chứa heparin và PBMCs được phân lập. Các tế bào T không được tiếp xúc được phân lập nhờ sử dụng Kit II được phân lập tế bào T-pan từ Miltenyi Biotec (#130-091-156). Các tế bào T được kích thích trước với 1 µg/ml PHA-M (Sigma Aldrich #L8902) trong 16 giờ trước khi bổ sung Proleukin hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc (bội bốn) đột biến, cho các tế bào được rửa trong 5 ngày khác. Sau 5 ngày, hàm lượng ATP của các dịch tế bào tế bào được đo nhờ sử dụng Thử nghiệm khả năng sống sót tế bào T phát quang cellTiter-Glo từ Promega (#G7571/2/3). Sự tăng sinh có liên quan được tính thiết lập nồng độ Proleukin cao nhất cho 100 % sự tăng sinh.

Sự bộc lộ Phosphatidylserin (PS) và chết tế bào của các tế bào T được thử nghiệm bằng phân tích đếm tế bào dòng chảy (FACSCantoII, BD Biosciences) của annexin V (Annexin-V-FLUOS Staining Kit, Roche Appliedg Science) và các tế bào được đổi màu propidium iođua (PI). Để gây ra sự hoạt hóa-gây ra

chết tế bào (AICD), các tế bào T được xử lý bằng sự tự sát của kháng thể kháng Fas gây ra tế bào (vô tính Millipore Ch11) trong 16 giờ sau 16 giờ PHA-M và 5 ngày điều trị với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab. Việc nhuộm màu Annexin V được thực hiện theo các chỉ dẫn của nhà sản xuất. Tóm lại, các tế bào được rửa với Đệm gắn kết Ann-V (1x gốc: 0,01 M Hepes/NaOH pH7,4, 0,14 M NaCl, 2,5 mM $CaCl_2$) và được đổi màu trong 15 phút ở nhiệt độ phòng trong bóng tối với Annexin V FITC (Roche). Các tế bào được rửa lại trong đệm gắn kết Ann-V trước khi bổ sung 200 µl/giếng đệm gắn kết Ann-V có chứa PI (0,3 µg/ml). Các tế bào được phân tích ngay lập tức bằng sự đo đạc tế bào dòng chảy.

Sự gắn kết với các tế bào biểu hiện FAP

Sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm và Fab-IL-2 qm-Fab với FAP người được biểu hiện trên các tế bào HEK293 được truyền nhiễm ổn định được đo bằng FACS. Tóm lại, 250 000 tế bào cho mỗi giếng được nuôi cấy với nồng độ biểu thị của các thể tiếp hợp miễn dịch trong tấm 96-giếng đáy tròn, được nuôi cấy trong 30 phút ở 4°C, và được rửa một lần bằng PBS/0,1 % BSA. Các thể tiếp hợp miễn dịch gắn kết được phát hiện sau khi nuôi cấy trong 30 phút ở 4°C với AffiniPure tiếp hợp FITC đoạn F(ab')2 dê kháng F(ab')2 người đặc trưng (Jackson Immuno Research Lab #109-096-097, dung dịch hoạt động: 1:20 được pha loãng trong PBS/0,1% BSA, được điều chế tươi) sử dụng FACS CantoII (phần mềm FACS Diva).

Phân tích về sự tiếp thu FAP nhờ sự gắn kết bởi FACS

Đối với một vài kháng thể FAP đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, được mô tả rằng chúng gây ra sự tiếp thu FAP nhờ sự gắn kết (ví dụ, được mô tả trong Baum et al., J Drug Target 15, 399-406 (2007); Bauer et al., Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition), vol. 28 (May 20 Supplement), abstract no. 13062 (2010); Ostermann et al., Clin Cancer Res 14, 4584-4592 (2008)). Do đó, chúng được phân tích các đặc tính tiếp thu về các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab của chúng. Tóm lại, các tế

bào GM05389 (các nguyên bào sợi phổi người,) được nuôi cấy trong môi trường EMEM với 15% FCS, được tách rời, được rửa, được đếm, được kiểm tra về khả năng sống sót và được cấy ở mật độ $2x10^5$ tế bào/giếng trong các tấm 12 giếng. Ngày tiếp theo, các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab được pha loãng trong môi trường lạnh và được cho gắn kết với bề mặt tế bào trong 30 phút trên đá. Lượng thừa của kháng thể không được gắn kết được rửa sạch nhờ sử dụng PBS lạnh và các tế bào còn được nuôi cấy trong 0,5 ml môi trường được giữ ấm trước hoàn toàn ở 37°C trong các khoảng thời gian được biểu thị. Khi đạt đến các thời điểm khác nhau, các tế bào được truyền trên nước đá, được rửa một lần bằng PBS lạnh và được nuôi cấy với kháng thể thứ cấp (FITC tiếp hợp AffiniPure đoạn F(ab')2 dê kháng F(ab')2 người đặc trưng, Jackson Immuno Research Lab # 109-096-097, pha loãng 1:20) trong 30 phút ở 4°C. Sau đó, các tế bào được rửa hai lần bằng PBS/0,1 % BSA, được truyền đến tấm 96 giếng, được phân ly trong 4 phút ở 4°C, 400 x g và các viên tế bào được tái huyền phù bằng xoáy nước. Các tế bào được cố định nhờ sử dụng 100 µl 2% PFA. Để đo đạc FACS, các tế bào được tái huyền phù trong 200 µl/mẫu PBS/0,1% BSA và được đo bằng giao thức tấm trong FACS CantoII (phần mềm FACS Diva).

Ví dụ 2

Các phiên bản biến đổi được thiết kế của IL-2 bao gồm một hoặc nhiều sự biến đổi sau (khi so với trình tự IL-2 dạng tự nhiên được nêu trong SEQ ID NO: 1):

1. T3A - gây mê của O-glycosyl hóa vị trí tiên đoán
2. F42A - gây mê của sự tương tác IL-2/IL-2R α
3. Y45A - gây mê của sự tương tác IL-2/IL-2R α
4. L72G - gây mê của sự tương tác IL-2/IL-2R α
5. C125A - sự biến đổi được mô tả trước để ngăn ngừa các hợp chất dime IL-2 vượt qua disulfit

Polypeptit IL-2 đột biến bao gồm tất cả các sự biến đổi 1-4 được biểu hiện ở đây như IL-2 bội bốn đột biến (qm). Nó còn có thể bao gồm sự biến đổi 5 (xem SEQ ID NO: 19).

Thêm vào ba sự biến đổi F42A, Y45A và L72G được thiết kế để ngăn cản cùng với sự gắn kết với CD25, sự biến đổi T3A được chọn để loại bỏ vị trí O-glycosyl hóa và thu được sản phẩm protein có tính đồng nhất cao hơn và nguyên chất khi polypeptit IL-2 qm hoặc thể tiếp hợp miễn dịch được biểu hiện trong các tế bào eukaryotic như các tế bào CHO hoặc HEK293.

Đối với các mục đích tinh chế thẻ His6 đã gắn vào đầu C được liên kết nhờ trình tự VD. Để so sánh phiên bản tương tự không được biến đổi của IL-2 được tạo ra mà chỉ chứa sự biến đổi C145A để ngăn chặn các cầu disulfit liên phân tử không mong muốn (SEQ ID NO: 3). Các trọng lượng phân tử tương ứng không có trình tự tín hiệu là 16423 D cho IL-2 trần và 16169 D cho IL-2 qm trần. IL-2 dạng tự nhiên và đột biến bội bốn với thẻ His được truyền nhiễm trong các tế bào HEK EBNA trong môi trường giải phóng huyết thanh (môi trường F17). Thể nổi đã lọc là đệm được trao đổi trên dòng chảy ngang, trước khi nạp nó trên NiNTA Superflow Cartridge (5 ml, Qiagen). Cột được rửa bằng đệm rửa: 20 mM natri phosphat, 0,5 M natri clorua pH 7,4 và được tách rửa bằng đệm tách rửa: 20 mM natri phosphat, 0,5 M natri clorua 0,5 M imidazol pH 7,4. Sau khi nạp cột được rửa bằng 8 dung tích cột (CV) đệm rửa, 10 CV 5% đệm tách rửa (tươgn ứung với 25 mM imidazol), sau đó được tách rửa bằng gradien đến 0,5 M imidazol. Nước giải hấp phần được chia được đánh bóng bằng sắc ký loại trừ kích thước trên cột HiLoad 16/60 Superdex75 (GE Healthcare) trong 2 mM MOPS, 150 mM natri clorua, 0,02% natri azit pH 7,3. Fig. 2 thể hiện sắc phổ của sự tinh chế thẻ His đối với IL-2 dạng tự nhiên trần. Bể 1 được làm từ các phần 78-85, bể 2 từ các phần 86-111. Fig. 3 thể hiện sắc phổ của sắc ký loại trừ kích thước đối với IL-2 dạng tự nhiên, đối với mỗi bể các phần 12 đến 14 được chia phần. Fig. 4 thể hiện sắc ký loại trừ kích thước phân tích đối với IL-2 dạng tự nhiên như được xác định trên cột Superdex 75, 10/300 GL (GE Healthcare) trong 2 mM MOPS, 150 mM natri clorua, 0,02% natri azit pH 7,3. Bể 1 và 2 có

chứa 2 protein của ca. 22 và 20 kDa. Bể 1 có nhiều protein lớn, và bể 2 có nhiều protein nhỏ, sự khác biệt này được coi là do các sự khác biệt về O-glycosyl hóa. Các hiệu suất là ca. 0,5 mg/L thể nổi đối với bể 1 và ca. 1,6 mg/L thể nổi đối với bể 2. Fig. 5 thể hiện sắc phổ của sự tinh chế thẻ His đối với IL-2 đột biến bội bốn. Bể 1 được làm từ các phần 59-91, bể 2 từ các phần 92-111. Fig. 6 thể hiện sắc phổ của sắc ký loại trừ kích thước đối với IL-2 đột biến bội bốn, ở đây chỉ các phần 12 đến 14 bể 2 được duy trì. Fig. 7 thể hiện sắc ký loại trừ kích thước phân tích đối với IL-2 đột biến bội bốn như được xác định trên cột Superdex 75, 10/300 GL (GE Healthcare) trong 2 mM MOPS, 150 mM natri clorua, 0,02% natri azit pH 7,3. Việc điều chế đối với IL-2 đột biến bội bốn trần chỉ chứa một protein của 20 kD. Protein này có vị trí O-glycosyl hóa bị loại trực tiếp. Ước số của IL-2 dạng tự nhiên trần và bội bốn đột biến được bảo quản lạnh ở -80°C. Các hiệu suất là ca 0,9 mg/L thể nổi.

Mẻ thứ hai của thẻ Hisged IL-2 đột biến bội bốn được tinh chế như được mô tả ở trên bằng sắc ký ái lực ion kim loại được giữ cố định (IMAC) và tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (SEC). Các đệm được sử dụng cho IMAC là 50 mM Tris, 20 mM imidazol, 0,5M NaCl pH 8 để cân bằng và rửa cột, và 50 mM Tris, 0,5 M imidazol, 0,5 M NaCl pH 8 để tách rửa. Đệm được sử dụng cho SEC và đệm công thức cuối cùng là 20 mM Histidin, 140 mM NaCl pH 6. Fig. 43 thể hiện kết quả của sự tinh chế đó. Hiệu suất là 2,3 ml/L thể nổi.

Sau đó, ái lực cho chất dị dime βγ IL-2R và nhóm nhỏ α IL-2R được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR). Tóm lại, phối tử – hoặc nhóm nhỏ α IL-2R người (Fc2) hoặc chất dị dime β chìa khóa γ lỗ khóa IL2-R người (Fc3) –được giữ cố định trên mạch CM5. Sau đó, dạng trần tự nhiên (bể 1 và 2) hoặc IL-2 đột biến bội bốn, và Proleukin (Novartis/Chiron) được áp dụng cho mạch khi phân tích ở 25°C trong đệm HBS-EP ở các phạm vi nồng độ từ 300 nM xuống đến 1,2 nM (1:3 chất pha loãng). Dòng chảy tốc độ là 30 µl/phút và các điều kiện sau được áp dụng cho sự kết hợp: 180 giây, sự phân ly: 300 giây, và sự tái sinh: 2 x 30 giây 3M $MgCl_2$ đối với chất dị dime β chìa khóa γ lỗ khóa IL2-R, 10 giây 50 mM NaOH đối với nhóm nhỏ α IL-2R. sự gắn

kết 1:1 được áp dụng để việc điều chỉnh (sự gắn kết 1:1 RI≠0, R tối đa=cục bộ đối với IL-2R βγ, K_D biểu kiến, sự gắn kết 1:1 RI=0, R tối đa=cục bộ đối với IL-2R α). Bảng 3 thể hiện các trị số K_D tương ứng để gắn kết IL-2 dạng tự nhiên và đột biến bội bốn người cũng như của Proleukin với nhóm nhỏ βγ IL-2R và α IL-2R.

Bảng 3. Ái lực của các polypeptit interleukin-2 đột biến với IL-2R ái lực trung gian và IL-2R nhóm nhỏ α.

K_D trong nM T = 25°C	Hu IL-2R βγ (động lực)	Hu IL-2R α (động lực)	Hu IL-2R α (trạng thái ổn định)
Dạng trần IL-2 wt, bể 1	5,6 5	17,4 16,6	30,3 23,9
Dạng trần IL-2 wt, bể 2	2,8 1,8	10,6 10	19,7 17,6
Dạng trần IL-2 qm	2,7 2	không gắn kết	không gắn kết
Proleukin	2,4 2,8	7,5 12,5	19 17,8

Dữ liệu thể hiện rằng IL-2 bội bốn đột biến trần thể hiện hoạt động phản ứng mong muốn và đã không còn sự gắn kết đối với IL-2R nhóm nhỏ α trong khi sự gắn kết với IL-2R βγ được duy trì và có thể so sánh với cấu trúc IL-2 dạng tự nhiên và Proleukin tương ứng. Các sự khác biệt giữa các bể 1 và 2 của IL-2 dạng tự nhiên chắc chắn có thể được quy cho các sự khác biệt trong O-glycosyl hóa. Tính biến đổi và tính không đồng nhất này đã từng được khắc phục trong IL-2 bội bốn đột biến bởi việc đưa vào sự biến đổi T23A.

Ví dụ 3

Ba sự biến đổi F42A, Y45A và L72G và sự biến đổi T3A được đưa ra ở dạng Fab-IL-2-Fab (Fig. 1A) sử dụng kháng FAP kháng thể 4G8 như kiểu hướng đích miền hoặc như các đột biến đơn: 1) 4G8 IL-2 T3A, 2) 4G8 IL-2 F42A, 3) 4G8 IL-2 Y45A, 4) 4G8 IL-2 L72G, hoặc chúng được bao gồm trong các cấu trúc Fab-IL-2 mt-Fab như: 5) F42A/Y45A/L72G bội ba đột biến, hoặc

như: 6) T3A/F42A/Y45A/L72G bội bốn đột biến để không hoạt hóa vị trí O-glycosyl hóa đúng. Fab-IL-2 wt-Fab gốc 4G8 đóng vai trò để so sánh. Tất cả các cấu trúc chứa sự biến đổi C145A để ngăn chặn các hợp chất dime IL-2 cầu disulfit. Các cấu trúc Fab-IL 2-Fab khác nhau được biểu hiện trong các tế bào HEK 293 và được tinh chế như được mô tả ở trên nhờ protein A và sắc ký loại trừ kích thước như được chỉ rõ ở trên. Sau đó, ái lực của các biến thể IL 2 được chọn đối với chất dị dime βγ IL 2R người và họ nhà chuột và đối với nhóm nhỏ α IL-2R người và họ nhà chuột được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) (Biacore) nhờ sử dụng sự tái tổ hợp chất dị dime βγ IL-2R và nhóm nhỏ α IL-2R monome dưới các điều kiện sau: Nhóm nhỏ α IL-2R được giữ cố định ở hai mật độ diện tích và tế bào dòng chảy với sự cố định cao được sử dụng cho các đột biến mà đã mất đi sự gắn kết CD25. Các điều kiện sau được sử dụng: sự cố định hóa học: chất dị dime βγ IL-2 R người 1675 RU; chất dị dime βγ IL-2R động vật gặm nhấm 5094 RU; nhóm nhỏ α IL-2 R người 1019 RU; nhóm nhỏ α IL-2 R người 385 RU, nhóm nhỏ α IL-2R họ nhà chuột 1182 RU; nhóm nhỏ α IL-2R họ nhà chuột 378 RU, nhiệt độ: 25°C, phân tích: các cấu trúc Fab các biến thể 4G8 Fab-IL 2 3,1 nM đến 200 nM, dòng chảy 40 µl/phút, sự kết hợp: 180 giây, sự phân ly: 180 giây, sự tái sinh: 10 mM glyxin pH 1,5, 60 giây, 40 µl/phút. Việc điều chỉnh: hai kiểu phản ứng tình trạng (thay đổi đối xứng), RI=0 R tối đa=cục bộ. Các kết quả của phân tích động lực được đưa ra trong Bảng 4.

Bảng 4. Ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến với IL-2R ái lực trung gian và IL-2R nhóm nhỏ α (K_D).

Cấu trúc Fab-IL-2-Fab	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α	Mu IL-2R βγ	Mu IL-2R α
4G8 IL-2 wt	3,8 nM	4,5 nM	45,6 nM	29 nM
4G8 IL-2 T3A	1,6 nM	4,9 nM	15,6 nM	15 nM
4G8 IL-2 F42A	4,7 nM	149 nM	57 nM	363 nM
4G8 IL-2 Y45A	3,9 nM	22,5 nM	41,8 nM	369 nM

Cấu trúc Fab-IL-2-Fab	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α	Mu IL-2R βγ	Mu IL-2R α
4G8 IL-2 L72G	ND	45,3 nM	ND	ND
4G8 IL-2 bội ba đột biến F42A/Y45A/L72G	5,6 nM	không gắn kết	68,8 nM	ND
4G8 IL-2 bội bốn đột biến T3A/F42A/Y45A/L72G	5,2 nM	không gắn kết	56,2 nM	không gắn kết

Sự gắn kết đồng thời với chất dị dime IL 2R βγ và FAP được thể hiện bởi SPR. Tóm lại, cấu trúc chìa khóa-trong-lỗ khóa IL 2R βγ người được giữ cố định trên mạch CM5 về phương diện hóa học và các cấu trúc 10 nM Fab-IL-2-Fab được giữ trong 90 giây. FAP người có lợi khi phân tích ở các nồng độ 200 nM trở xuống đến 0,2 nM. Các điều kiện là: nhiệt độ: 25°C, đệm: HBS-EP, dòng chảy: 30 µl/phút, sự kết hợp:90 giây, sự phân ly: 120 giây. Sự tái sinh được làm trong 60 giây với 10 mM glyxin pH 2. Việc điều chỉnh được thực hiện với mô hình gắn kết 1:1, RI ≠ 0, Rmax=global. Thử nghiệm nối SPR đã thể hiện rằng các cấu trúc Fab-IL-2-Fab, cả hai như dạng tự nhiên và như bội bốn đột biến, cũng như dựa vào ái lực trưởng thànhd FAP gắn kết 28H1 trên các kháng thể 3F2 hoặc 4G8 mẹ, là có thể gắn kết ở nồng độ 10 nM đồng thời cho chất dị dime IL 2R βγ được giữ cố định trên mạch cũng như để FAP người được sử dụng khi phana tích (Fig. 8). Các ái lực được xác định được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5. Ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích, bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến và được gắn kết với IL-2R ái lực trung gian, với FAP (K_D).

Cấu trúc Fab-IL-2-Fab	**K_D**
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	5,0 nM
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	5,6 nM
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	0,32 nM
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	0,89 nM
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	1,2 nM

Việc thực hiện cùng với dữ liệu SPR đã thể hiện rằng i) sự biến đổi T3A không ảnh hưởng đến sự gắn kết với CD25, ii) ba sự biến đổi F42A, Y45A và L72G không ảnh hưởng đến ái lực cho chất dị dime βγ IL 2R trong khi chúng làm giảm ái lực đối với CD25 theo thứ tự này: wt = T3A > Y45A (ca. 5 lần thấp hơn) > L72G (ca. 10 lần thấp hơn) > F42A (ca. 33 lần thấp hơn); iii) sự kết hợp của ba sự biến đổi F42A, Y45A và L72G có hoặc không có vị trí O-glycosyl hóa đột biến T3A dẫn tới sự thiếu hụt hoàn toàn sự gắn kết CD25 như được xác định dưới các điều kiện SPR, iv) mặc dù ái lực của IL-2 người đối với chất dị dime βγ IL-2R họ nhà chuột và nhóm nhỏ α IL-2R được giảm tương đối bởi nhân tố của 10 khi so với thụ thể IL-2s người các sự biến đổi được chọn không ảnh hưởng đến ái lực đối với chất dị dime βγ IL-2R họ nhà chuột, nhưng hủy bỏ sự gắn kết với nhóm nhỏ α IL-2R họ nhà chuột như vậy. Điều này chỉ báo rằng động vật gặm nhấm đại diện cho kiểu hợp lý đối với nghiên cứu về các tác động độc học và dược lý học của các đột biến IL-2, mặc dù toàn bộ IL-2 biểu hiện độc tính giảm trong các loài gặm nhấm hơn ở người.

Từng phần từ sự thiếu hụt của O-glycosyl hóa một bổ sung sự kết hợp thuận lợi của bốn sự biến đổi T3A, F42A, Y45A, L72G có tính kỵ nước bề mặt thấp hơn của IL-2 bội bốn đột biến do sự biến đổi của các gốc kỵ nước tiếp xúc bề mặt như phenylalanin, tyrosin hoặc leuxin bởi alanin. Một phân tích về nhiệt độ khối kết tập bởi sự phân tán ánh sáng động đã thể hiện rằng nhiệt độ khối kết tập đối với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab FAP-hướng đích bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn là nằm trong cùng phạm vi: ca. 57-58°C đối với Fab-IL-2-Fab thể mẹ 3F2 và đối với 29B11 dẫn xuất 3F2 ái lực trưởng thành; và nằm trong phạm vi 62-63°C đối với Fab-IL-2-Fab thể mẹ 4G8 và các dẫn xuất 28H1, 4B9 và 14B3 4G8 ái lực trưởng thành, chỉ báo rằng sự kết hợp của bốn sự biến đổi không có tác động tiêu cực lên tính ổn định protein. Trong việc hỗ trợ của các đặc tính thuận lợi của IL-2 bội bốn đột biến được chọn, các hiệu suất biểu hiện tạm thời biểu thị rằng bội bốn đột biến ở dạng Fab-IL-2 qm-Fab thậm chí có thể dẫn tới các hiệu suất biểu hiện cao hơn các hiệu suất được quan sát đối với các cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab tương ứng. Cuối cùng, phân

tích dược động học thể hiện rằng cả hai Fab-IL-2 qm-Fab và Fab-IL-2 wt-Fab gốc 4G8 có các đặc tính PK có thể so sánh (xem ví dụ 9 dưới đây). Dựa vào dữ liệu này và dữ liệu tế bào được mô tả trong ví dụ 4 dưới đây, T3A, F42A, Y45A, L72G bội bốn đột biến được chọn như sự kết hợp lý tưởng của các sự biến đổi để hủy bỏ sự gắn kết CD25 của IL-2 trong thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab hướng đích.

Ví dụ 4

Các thể tiếp hợp miễn dịch 4G8-gốc FAP-hướng đích Fab-IL 2-Fab, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc các đột biến 4G8 IL-2 T3A, 4G8 IL-2 F42A, 4G8 IL-2 Y45A, 4G8 IL-2 L72G riêng rẽ hoặc bội ba tương ứng (F42A/Y45A/L72G) hoặc bội bốn đột biến (T3A/F42A/Y45A/L72G) IL-2, sau đó được thử nghiệm trong các thử nghiệm tế bào so với Proleukin như được mô tả ở trên.

Sự giải phóng IL-2 gây ra IFN-γ được đo tiếp sau nuôi cấy của tế bào NK92 dòng NK với các cấu trúc (Fig. 9). Các tế bào NK92 biểu hiện CD25 trên bề mặt của chúng. Các kết quả thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên giảm tiềm tàng khi gây ra sự giải phóng IFN-γ hơn Proleukin như có thể được mong đợi từ ái lực thấp hơn ca. 10-lần của Fab-IL-2 wt-Fab đối với chất dị dime IL-2R βγ. Việc đưa vào các sự biến đổi riêng rẽ cản trở sự gắn kết CD25 cũng như sự kết hợp của ba sự biến đổi cản trở sự gắn kết CD25 trong IL-2 bội ba đột biến đã dẫn đến các cấu trúc Fab-IL-2-Fab mà có thể được so sánh với cấu trúc IL-2 dạng tự nhiên trong các thuật ngữ về hiệu lực và sự kích thích hoàn toàn của sự giải phóng IFN-γ trong sự sai sót của phương pháp.

Bảng 6. Sự kích thích của sự giải phóng IFN-γ từ các tế bào NK bằng các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến.

Cấu trúc	EC_{50} [nM]
Proleukin	4,1
4G8 Fab-IL 2 wt-Fab	23,0

Cấu trúc	EC_{50} [nM]
4G8Fab-IL-2 (T3A)-Fab	16,2
4G8 Fab-IL-2 (F42A)-Fab	15,4
4G8 Fab-IL-2(Y45A)-Fab	20,9
4G8 Fab-IL-2 (L72G)-Fab	16,3
4G8 Fab-IL-2 (bội ba đột biến 42/45/72)-Fab	24,4

Sau đó, sự kích thích tăng sinh của các tế bào NK người được phân lập bởi các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab được đánh giá trong thử nghiệm tăng sinh (Cell Titer Glo, Promega) (Fig. 10). Trái ngược với các tế bàoNK92 , freshly các tế bào NK được phân lập không biểu hiện CD25 (hoặc chỉ với lượng rất thấp). Các kết quả thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên là ca. 10-lần ít hơn tiềm tàng khi gây ra sự tăng sinh tế bào NK so với Proleukin, như có thể được mong đợi từ ca. 10-lần ái lực thấp hơn của thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab đối với chất dị dime βγ IL-2R. Việc đưa vào các sự biến đổi đơn cản trở sự gắn kết CD25 cũng như sự kết hợp của ba sự biến đổi cản trở CD25 trong IL-2 bội ba đột biến đã dẫn đến các cấu trúc Fab-IL-2-Fab có thể so sánh cấu trúc với IL-2 dạng tự nhiên về mặt hiệu lực và sự kích thích hoàn toàn của sự tăng sinh; chỉ có sự thay đổi rất nhỏ về hiệu lực được quan sát đối với Fab-IL-2-Fab bội ba đột biến. Trong thử nghiệm thứ hai sự kích thích của sự tăng sinh của các tế bào T hoạt hóa PHA được đánh giá tiếp theo việc nuôi cấy với các lượng khác nhau của Proleukin và các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab (Fig. 11). Như các tế bào T hoạt hóa biểu hiện CD25, sự biến đổi toàn bộ trong sự tăng sinh tế bào T có thể được quan sát trong khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm các đột biến IL-2 F42A, L72G hoặc Y45A đơn; với F42A thể hiện sự biến đổi mạnh nhất tiếp theo bằng L72G và Y45A, trong khi sử dụng Fab-IL-2 wt-Fab hoặc Fab-IL-2 (T3A)-Fab sự hoạt hóa hầu như được duy trì khi so với Proleukin. Dữ liệu này phản ánh sự biến đổi về ái lực đối với CD25 như được xác định bởi SPR (ví dụ ở trên). Sự kết hợp của ba sự biến đổi cản trở sự gắn kết CD25 trong IL-2 bội ba đột biến đã dẫn đến thể tiếp hợp miễn dịch được trung gian giảm đáng kể sự kích thích của

sự tăng sinh tế bào T trong dung dịch. Theo các phát hiện này tế bào chết được đo của các tế bào T như được xác định bằng chất nhuộm màu Annexin V/PI tiếp theo sự kích thích quá mức gây ra bởi sự kích thích thứ nhất trong 16 giờ với 1 µg/ml PHA, sự kích thích thứ hai trong 5 ngày với Proleukin hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab tương ứng, tiếp theo bằng sự kích thích thứ ba với 1 µg/ml PHA. Theo sự thiết lập này các tác giả đã quan sát được rằng sự hoạt hóa gây ra chết tế bào (AICD) trong các tế bào T được kích thích quá mức được giảm mạnh với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm các đột biến đơn IL-2 F42A, L72G và Y45A cản trở sự gắn kết CD25, với F42A và L72G thể hiện sự biến đổi mạnh nhất, mà là tương tự với sự biến đổi đạt được bằng sự kết hợp của ba sự biến đổi trong thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 bội ba đột biến (Fig. 12). Theo nhóm các thử nghiệm gần nhất các tác giả đã nghiên cứu các tác động của Fab-IL-2 qm-Fab lên sự kích thích của sự phosphoryl hóa STAT5 khi so với Fab-IL-2 wt-Fab và Proleukin lên các tế bào NK người, các tế bào T $CD4^+$, các tế bào T $CD8^+$ và các tế bào T_{reg} từ PBMCs người (Fig. 13). Đối với các tế bào NK và các tế bào T $CD8^+$ mà không thể hiện hoặc biểu hiện CD25 rất thấp (có nghĩa là sự phát tín hiệu IL-2R được trung gian nhờ chất dị dime βγ IL-2R) các kết quả thể hiện rằng dạng Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên ít hơn ca. 10-lần tiềm tàng khi gây ra sự phosphoryl hóa STAT5 hơn Proleukin, và Fab-IL-2 qm-Fab là có thể so sánh với cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab. Trên các tế bào T $CD4^+$, mà thể hiện sự điều chỉnh lên nhanh của CD25 nhờ sự kích thích, Fab-IL-2 qm-Fab là ít hơn tiềm tàng tiếp sau thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab, nhưng vẫn đã thể hiện sự kích thích có thể so sánh của sự phát tín hiệu IL-2R ở các nồng độ bão hòa. Điều này là trái ngược với các tế bào T_{reg} ở nơi hiệu lực của Fab-IL-2 qm-Fab được giảm đáng kể khi so với thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab do biểu hiện CD25 cao trên các tế bào T_{reg} và ái lực gắn kết cao tiếp sau của thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab với CD25 trên các tế bào T_{reg}. Như một kết quả của sự hủy bỏ của sự gắn kết CD25 trong thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab, IL-2 phát tín hiệu trong các tế bào T_{reg} chỉ được hoạt hóa nhờ chất dị dime βγ IL-2R ở các nồng độ nơi sự phát tín hiệu IL-

2R được hoạt hóa trên các tế bào T âm tính CD25 phản ứng thông qua chất dị dime βγ IL-2R. Việc thực hiện cùng với IL-2 bội bốn đột biến được mô tả ở đây là có khả năng để hoạt hóa sự phát tín hiệu IL-2R thông qua chất dị dime βγ IL-2R, mà không dẫn tới AICD và cũng không dẫn tới sự kích thích ưu tiên của các tế bào T_{reg} hơn các tế bào kích thích khác.

Ví dụ 5

Dựa vào dữ liệu được mô tả trong các ví dụ 2 và 3 các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab ái lực trưởng thành dựa vào các 28H1 hoặc 29B11 vô tính được tạo ra và được tinh chế như được mô tả ở trên trong phần các phương pháp chung. Chi tiết hơn, FAP-hướng đích 28H1 hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab được tinh chế bằng một bước ái lực (protein G) tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (Superdex 200). Sự cân bằng cột được thực hiện trong PBS và thể nổi từ bể CHO ổn định (môi trường CDCHO) được tải trên cột protein G (GE Healthcare), cột được rửa bằng PBS và các mẫu sau đó được tách rửa bằng 2,5 mM HCl và các phần được trung tính hóa ngay lập tức bằng 10x PBS. Sắc ký loại trừ kích thước được thực hiện trong đệm công thức cuối cùng: 25 mM natri phosphat, 125 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 6,7 trên cột Superdex 200. Fig. 14 thể hiện các hồ sơ tách rửa từ sự tinh chế và các kết quả từ sự mô tả đặc điểm phân tích của sản phẩm bằng SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel 4-20%, Invitrogen, đệm trượt MOPS, được giảm và không được giảm). Việc truyền khả năng gắn kết thấp của đoạn Fab 28H1 cho các bước thu hút bổ sung protein G và protein A có thể dẫn tới các hiệu suất cao hơn.

Các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8, 3F2 và 29B11 Fab-IL-2 qm-Fab và MCSP-hướng đích MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab được tinh chế bằng một bước ái lực (protein A) tiếp theo bằng sắc ký loại trừ kích thước (Superdex 200). Sự cân bằng cột được thực hiện trong 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat pH 7,5 và thể nổi được tải trên cột protein A. Quá trình rửa thứ nhất được thực hiện trong 20 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, pH 7,5 tiếp

theo bằng quá trình rửa thứ hai: 13,3 mM natri phosphat, 20 mM natri xitrat, 500 mM natri clorua, pH 5,45. Các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab được tách rửa trong 20 mM natri xitrat, 100 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 3. Sắc ký loại trừ kích thước được thực hiện trong đệm công thức cuối cùng: 25 mM kali phosphat, 125 mM natri clorua, 100 mM glyxin pH 6,7. Fig. 15 thể hiện các hồ sơ tách rửa từ sự tinh chế và các kết quả từ đặc tính phân tích của sản phẩm bởi SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel 4-20%, Invitrogen, đệm vận hành MOPS, được làm giảm và không được làm giảm) đối với thể tiếp hợp miễn dịch 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab và Fig. 16 đối với MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab.

Các protein hợp nhất FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm dựa vào các kháng thể FAP-4G8, 4B9 và 28H1, và protein hợp nhất DP47GS không hướng đích IgG-IL-2 qm đối chứng được tạo ra như được mô tả ở trên trong phần các phương pháp chung. Các Fig. 46 và 47 thể hiện các sắc phổ và các hồ sơ tách rửa tương ứng của sự tinh chế (A, B) cũng như các sắc ký SDS-PAGE phân tích và ngăn chặn kích cỡ của các cấu trúc được tinh chế cuối cùng (C, D) đối với các cấu trúc gốc 4G8- và 28H1-. Các kết quả biểu hiện tạm thời là 42 mg/L đối với thể tiếp hợp miễn dịch 4G8-gốc và 20 mg/L đối với 28H1-gốc IgG-IL-2 qm.

Sự gắn kết hoạt hóa FAP của các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm dựa vào các kháng thể kháng FAP 4G8 và 28H1 được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) trên thiết bị Biacore khi so với các kháng thể IgG không được sửa đổi tương ứng. Tóm lại, kháng thể kháng His (Penta-His, Qiagen 34660) được giữ cố định trên mạch CM5s để thu hút 10 nM FAP người được gắn thẻ His (20 giây). Nhiệt độ là 25°C và HBS-EP được sử dụng như đệm. Nồng độ phân tích là 50 nM xuống đến 0,05 nM ở tốc độ dòng chảy 50 µl/phút (sự kết hợp: 300 giây, sự phân ly: 900 giây, sự tái sinh: 60 giây với 10 mM glyxin pH 2). Việc điều chỉnh được thực hiện dựa vào kiểu sự gắn kết 1:1, RI=0, R tối đa=cục bộ (vì dạng thu hút). Bảng 7 đưa ra các ái lực có hóa trị hai biểu kiến dự tính (pM thu hút) như được xác định bằng SPR được làm phù hợp với sự gắn kết 1:1 RI=0, R tối đa=cục bộ.

Bảng 7.

K_D [pM]	Hu FAP
4G8 IgG-IL-2 qm	100
4G8 IgG	50
28H1 IgG-IL-2 qm	175
28H1 IgG	200

Dữ liệu thể hiện rằng trong độ lệch của phương pháp ái lực đối với FAP người được duy trì đối với thể tiếp hợp miễn dịch gốc 28H1 hoặc chỉ được giảm đôi chút đối với thể tiếp hợp miễn dịch gốc 4G8 như khi so với các kháng thể không được sửa đổi tương ứng.

Ví dụ 6

Ái lực của FAP-hướng đích, các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab gốc28H1 và 29B11 ái lực trưởng thành, mỗi trong đó bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, và của Fab-IL-2 wt-Fab gốc 3F2 được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) đối với chất dị dime βγ IL-2R người, họ nhà chuột và Xynomolgus sử dụng sự tái tổ hợp chất dị dime βγ IL-2R dưới các điều kiện sau: phối tử: chất dị dime chìa khóa β lỗ khóa γ IL-2R người, họ nhà chuột và Xynomolgus được giữ cố định trên mạch CM5, phân tích: Fab-IL-2-Fab 28H1 hoặc 29B11 (bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn), Fab-IL-2-Fab 3F2 (bao gồm IL-2 dạng tự nhiên), nhiệt độ: 25°C hoặc 37°C, đệm: HBS-EP, nồng độ phân tích: 200 nM xuống đến 2,5 nM, dòng chảy: 30 µl/phút, sự kết hợp: 300 giây, sự phân ly: 300 giây, sự tái sinh: 60 giây 3M $MgCl_2$, điều chỉnh: sự gắn kết 1:1, RI≠0, Rtối đa=toàn bộ. Ái lực của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab gốc 28H1 và 29B11 ái lực trưởng thành, mỗi trong đó có chứa IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, và của Fab-IL-2 wt-Fab gốc 3F2 được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) đối với nhóm nhỏ α IL-2R người, họ nhà chuột và Xynomolgus sử dụng sự tái tổ hợp nhóm nhỏ α IL-2R monome dưới các điều kiện sau: phối tử: nhóm nhỏ α IL-2R người, họ nhà chuột và Xynomolgus được

giữ cố định trên mạch CM5, phân tích: Fab-IL-2-Fab 28H1 hoặc 29B11 (bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến), 3F2 Fab-IL-2-Fab (bao gồm IL-2 dạng tự nhiên), nhiệt độ: 25°C hoặc 37°C, đệm: HBS-EP, nồng độ phân tích 25 nM xuống đến 0,3 nM, dòng chảy: 30 µl/phút, sự kết hợp: 120 giây, sự phân ly: 600 giây, sự tái sinh: không, điều chỉnh: sự gắn kết 1:1, RI=0, Rtối đa=toàn bộ.

Các kết quả về phân tích động lực với chất dị dime βγ IL-2R được đưa ra trong Bảng 8.

Bảng 8. Sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm Fab ái lực trưởng thành và IL-2 đột biến với các chất dị dime βγ IL-2R.

K_D trong nM	Hu IL-2R βγ (25°C)	Hu IL-2R βγ (37°C)	Cyno IL-2R βγ (25°C)	Cyno IL-2R βγ (37°C)	Mu IL-2R βγ (25°C)	Mu IL-2R βγ (37°C)
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	9,7 9	19 22	11,5 11,6	29,2 30,4	112 79	186 219
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	7,5 6,9	14,3 14,7	8,9 8,4	21,3 21,2	66 54	142 106
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	6,5 5,7	9,5 12,4	6,9 6,7	14 19	93 74	71 74
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	7,2 7,4	13,1 13	7,8 8,4	16,7 18,1	60 63	44 42
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	5 4,8	ND	6,4 6,1	ND	40 40	ND

Trong khi ái lực của IL-2 người cho chất dị dime βγ IL 2R người được mô tả là gần 1 nM, các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab (bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn) cả hai có ái lực giảm giữa 6 và 10 nM, và như được thể hiện đối với IL-2 trần ở trên ái lực cho IL-2R họ nhà chuột là yếu hơn gần 10 lần đối với IL-2R xynomolgous và người.

Các kết quả phân tích động lực với IL-2R nhóm nhỏ α được thể hiện ở Bảng 9. Dưới các điều kiện lựa chọn có khả năng phát hiện sự không gắn kết

của các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 bội bốn đột biến với người, họ nhà chuột hoặc xyno IL-2R nhóm nhỏ α.

Bảng 9. Sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm đột biến Fab và IL-2 ái lực đã trưởng thành với các IL-2R nhóm nhỏ α.

K_D trong nM	Hu IL-2R α (25°C)	Hu IL-2R α (37°C)	Cyno IL-2R α (25°C)	Cyno IL-2R α (37°C)	Mu IL-2R α (25°C)	Mu IL-2R α (37°C)
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	16 16,2	28,8 28,2	16 16,2	36,5 35,6	43,3 44	67,5 61,1
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab	5 4,6	7,6 7,7	4,8 4,3	7,3 7,4	11,4 9,6	13,3 13,8
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết	không gắn kết
3F2 Fab-IL-2 wt-Fab	5,7 6,1	ND	5 5,4	ND	12,3 12,1	ND

Ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab MCSP-hướng đích MHLG1-KV9, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) đối với người chất dị dime βγ IL-2R nhờ sử dụng chất dị dime βγ IL-2R tái tổ hợp dưới các điều kiện sau: chất dị dime chìa khóa β lỗ khóa γ IL-2R người được giữ cố định trên mạch CM5 (1600 RU). MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab và Fab-IL-2 qm-Fab được sử dụng khi phân tích ở 25°C trong đệm HBS-P. Nồng độ phân tích là 300 nM xuống đến 0,4 nM (chất pha loãng 1:3) đối với βγ IL-2R ở dòng chảy 30 µl/phút (thời gian kết hợp 180 giây, thời gian phân ly 300 giây). Sự tái sinh được thực hiện trong 2x30 giây với 3M $MgCl_2$ đối với βγ IL-2R. Dữ liệu được điều chỉnh thích hợp nhờ sử dụng sự gắn kết 1:1, RI≠0, R tối đa=cục bộ đối với βγ IL-2R.

Ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab MCSP-hướng đích MHLG1-KV9, bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) đối với nhóm nhỏ α IL-

2 R người sử dụng sự tái tổ hợp nhóm nhỏ α IL-2R monome dưới các điều kiện sau: nhóm nhỏ α IL-2 R người được giữ cố định trên mạch CM5 (190 RU). MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab và Fab-IL-2 qm-Fab được sử dụng khi phân tích ở 25°C trong đệm HBS-P. Nồng độ phân tích là 33,3 nM xuống đến 0,4 nM (chất pha loãng 1:3) đối với IL-2R α ở dòng chảy 30 µl/phút (thời gian kết hợp 180 giây, thời gian sự phân ly 300 giây). Sự tái sinh được thực hiện trong 10 giây với 50 mM NaOH đối với IL-2R α. Dữ liệu được điều chỉnh phù hợp sử dụng sự gắn kết 1:1, RI=0, Rtối đa=toàn bộ đối với IL-2R α.

Kết quả phân tích động lực với chất dị dime IL-2R βγ được thể hiện ở Bảng 10.

Bảng 10.

K_D trong nM T = 25°C	Hu IL 2R βγ (động lực)	Hu IL 2R α (động lực)	Hu IL 2R α (trạng thái ổn định)
MHLG1-KV9 Fab-IL-2 wt-Fab	8,6 9,8	8,8 10,1	6,8 10,9
MHLG1-KV9 Fab-IL 2 qm-Fab	7,3 10,7	Không gắn kết	Không gắn kết

Dữ liệu xác nhận rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab MCSP-hướng đích MHLG1-KV9 có ái lực được duy trì đối với thụ thể IL-2R βγ, trong khi ái lực gắn kết với CD25 bị hủy bỏ khi so với thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 dạng tự nhiên.

Sau đó, ái lực của các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gốc 4G8- và 28H1 cho chất dị dime βγ IL-2R và nhóm nhỏ α IL-2R được xác định bằng sự cộng hưởng gen nguyên sinh bề mặt (SPR) khi so sánh kiểm soát với dạng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab. Tóm lại, các phối tử - hoặc nhóm nhỏ α IL-2 R người hoặc chất dị dime βγ IL-2 R người - được giữ cố định trên mạch CM5. Sau đó, các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gốc 4G8- và 28H1 hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab gốc 4G8- và 28H1 được áp dụng cho mạch khi phân tích ở 25°C trong đệm HBS-EP ở các phạm vi nồng độ từ

300 nM xuống đến 1,2 nM (chất pha loãng 1:3). Tốc độ dòng chảy là 30 µl/phút và các điều kiện sau được áp dụng đối với sự kết hợp: 180 giây, sự phân ly: 300 giây, và sự tái sinh: 2 x 30 giây với 3 M $MgCl_2$ đối với chất dị dime βγ IL-2R, 10 giây với 50 mM NaOH đối với nhóm nhỏ α IL-2R. Sự gắn kết 1:1 được áp dụng đối với việc điều chỉnh (sự gắn kết 1:1 RI≠0, R tối đa=cục bộ đối với βγ IL-2R, K_D biểu kiến, sự gắn kết 1:1 RI=0, R tối đa=cục bộ đối với IL-2R α). Các trị số K_D tương ứng được đưa ra trong Bảng 11.

Bảng 11.

K_D biểu kiến [nM]	Hu IL-2R βγ	Hu IL-2R α
4G8 IgG-IL-2 qm	5,9	Không gắn kết
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	10,4	Không gắn kết
28H1 IgG-IL-2 qm	6,2	Không gắn kết
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	11,4	Không gắn kết

Dữ liệu thể hiện rằng các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gốc 4G8- và 28H1- gắn kết với ít nhất như ái lực phù hợp các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab với chất dị dime IL-2R βγ, trong khi chúng không gắn kết với IL-2R nhóm nhỏ α do sự đưa vào của các sự biến đổi cản trở CD25 sự gắn kết. Khi so với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab tương ứng, ái lực của các protein hợp nhất IgG-IL-2 qm xuất hiện để được nâng cao một chút trong sự sai số của phương pháp.

Ví dụ 7

Trong nhóm các thử nghiệm thứ nhất họ đã xác nhận rằng các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab FAP-hướng đích bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến có khả năng gắn kết với các tế bào HEK 293-FAP biểu hiện FAP người bởi FACS (Fig. 17) và rằng sự biến đổi IL-2 bội bốn không ảnh hưởng đến ự gắn kết với các tế bào biểu hiện FAP (Fig. 18).

Bảng 12. Sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab với các tế bào HEK biểu hiện FAP.

Các trị số EC_{50}	nM
28H1 Fab-IL-2-Fab	0,64
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	0,70
29B11 Fab-IL-2-Fab	0,66
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab	0,85
4G8 Fab-IL-2-Fab	0,65

Cụ thể là, các thử nghiệm gắn kết này đã thể hiện rằng các chất kết dính FAP ái lực trưởng thành 28H1, 29B11, 14B3 và 4B9 như Fab-IL-2 qm-Fab đã thể hiện sự gắn kết tuyệt đối cao hơn cho các tế bào đích T HEK 293-FAP khi so với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab dựa vào các chất kết dính FAP thể mẹ 3F2 (29B11, 14B3, 4B9) và 4G8 (28H1) (Fig. 17), trong khi duy trì nét đặc trưng cao và không gắn kết với các tế bào HEK 293 được truyền nhiễm với DPPIV, một chất đồng đẳng gần giống của FAP, hoặc các tế bào được truyền nhiễm giả HEK 293. Để so sánh kháng thể vô tính DPPIV CD26-PE kháng người M-A261 động vật gặm nhấm (BD Biosciences, #555437) được sử dụng như đối chứng dương tính (Fig. 19). Sự phân tích về các đặc tính tiếp thu đã thể hiện rằng sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab không dẫn tới sự kích thích của sự tiếp thu FAP (Fig. 20).

Trong một thử nghiệm nữa, sự gắn kết của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm gốc 4G8 và Fab-IL-2 qm-Fab với FAP người được biểu hiện trên các tế bào HEK293 được truyền nhiễm ổn định được đo bằng FACS. Các kết quả được thể hiện ở Fig. 48. Dữ liệu thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gắn kết với các tế bào FAP biểu hiện có trị số EC50 là 0,9 nM, có thể so sánh với chúng của cấu trúc Fab-IL-2 qm-Fab gốc 4G8 tương ứng (0,7 nM).

Các thể tiếp hợp miễn dịch kháng FAP Fab-IL-2-Fab ái lực trưởng thành bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc bội bốn đột biến sau đó được thử nghiệm trong các thử nghiệm tế bào so với Proleukin như được mô tả trong các ví dụ ở trên.

Sự giải phóng IFN-γ gây ra IL-2 được đo trong thể nổi bằng ELISA tiếp sau sự nuôi cấy của tế bào NK dòng NK92 với các thể tiếp hợp miễn dịch này (Fig. 21) trong 24 giờ. Các tế bào NK92 biểu hiện CD25 trên bề mặt của chúng. Các kết quả thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên đã giảm tiềm tàng khi gây ra sự giải phóng IFN-γ hơn Proleukin như đã có thể được mong đợi từ ca. 10-lần ái lực thấp hơn của thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab đối với chất dị dime βγ IL-2R. Các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab hoàn toàn có thể so sánh với cấu trúc dạng tự nhiên tương ứng đối với vô tính được chọn về mặt hiệu lực và sự kích thích tuyệt đối của sự giải phóng IFN-γ bất chấp thực tế rằng các tế bào NK92 biểu hiện một vài CD25. Nó có thể, tuy nhiên, được quan sát rằng Fab-IL-2 qm-Fab 29B11 gây ra sự giải phóng xytokin ít hơn khi so với các cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab 29B11 cũng như 28H1 và 4G8, để chúng chỉ có sự thay đổi nhỏ về hiệu lực được quan sát đối với Fab-IL-2 qm-Fab hơn Fab-IL-2 wt-Fab.

Ngoài ra, thể tiếp hợp miễn dịch MCSP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab gốc MHLG1-KV9 như được so với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1 và 29B11 trong thử nghiệm giải phóng IFN-γ lên các tế bào NK92. Fig. 22 thể hiện rằng MCSP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab gốc MHLG1-KV9 hoàn toàn có thể so sánh khi gây ra sự giải phóng IFN-γ cho các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab.

Sau đó, sự kích thích của sự tăng sinh các tế bào NK92 bởi IL-2 qua khoảng thời gian 3 ngày được đánh giá về sự thử nghiệm tăng sinh bởi phép đo ATP sử dụng CellTiter Glo (Promega) (Fig. 23). Cụ thể là các tế bào NK92 biểu hiện số lượng CD25 thấp, sự khác biệt giữa các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên và các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 đột biến bội bốn có thể được phát hiện trong sự thử nghiệm tăng sinh, tuy nhiên, dưới các điều kiện bão hòa đã đạt được cả sự kích thích tuyệt đối của sự tăng sinh.

Trong một thử nghiệm nữa, họ đã nghiên cứu các hiệu quả của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab ái lực trưởng thành 28H1 lên sự kích thích của sự phosphoryl hóa STAT5 được so sánh với 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab và Proleukin lên các tế bào NK người, các tế bào T $CD4^+$, các tế bào T $CD8^+$ và các tế bào T_{reg} từ PBMCs người (Fig. 24). Đối với các tế bào NK và các tế bào T $CD8^+$, mà không thể hiện hoặc thể hiện rất thấp biểu hiện CD25 (có nghĩa là sự phát tín hiệu IL-2R được trung gian nhờ chất dị dime IL-2R βγ), các kết quả đã thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab bao gồm IL-2 dạng tự nhiên là ca. >10-lần nhỏ hơn tiềm tàng khi gây ra sự giải phóng IFN-γ so với Proleukin, và rằng thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab chỉ nhỏ hơn một chút so với cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab. Trên các tế bào T $CD4^+$ thể hiện sự điều chỉnh lên nhanh của CD25 vào lúc kích thích, Fab-IL-2 qm-Fab giảm đáng kể tiềm tàng hơn thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab, nhưng vẫn thể hiện sự kích thích có thể so sánh của sự phát tín hiệu IL-2R ở các nồng độ bão hòa. Điều này trái ngược với các tế bào T_{reg}, nơi hiệu lực của Fab-IL-2 qm-Fab được giảm đáng kể khi so với cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab do biểu hiện CD25 cao trên các tế bào T_{reg} và ái lực gắn kết cao theo sau của cấu trúc Fab-IL-2 wt-Fab với CD25 trên các tế bào T_{reg}. Như một kết quả của sự hủy bỏ của sự gắn kết CD25 trong thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab, sự phát tín hiệu IL-2 trong các tế bào T_{reg} chỉ được kích hoạt nhờ chất dị dime IL-2R βγ ở các nồng độ nơi sự phát tín hiệu IL-2R được kích hoạt trên các tế bào T âm tính CD25 phản ứng qua chất dị dime IL-2R βγ. Các trị số EC50 pM tương ứng được đưa ra trong Bảng 13.

Bảng 13. Sự kích thích của sự giải phóng IFN-γ từ các tế bào NK bởi các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2-Fab 28H1 FAP-hướng đích bao gồm các polypeptit interleukin-2 đột biến.

EC_{50} [pM]	Các tế bào NK	Các tế bào T $CD8^+$	Các tế bào T $CD4^+$	Các tế bào T_{reg}
Proleukin	222	1071	92	1
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab	3319	14458	3626	15
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	3474	20583	70712	19719

Trong nhóm các thử nghiệm khác, sự hoạt hóa sinh học của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm gốc 4G8 và Fab-IL-2 qm-Fab được tìm thấy trong một vài thử nghiệm tế bào.

Các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm gốc 4G8 và Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1 được nghiên cứu về sự kích thích của sự giải phóng IFN-γ bởi các tế bào NK92 khi gây ra bởi sự hoạt hóa của sự phát tín hiệu IL-2R βγ. Fig. 49 thể hiện rằng thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích IgG-IL-2 qm gốc 4G8 có hiệu quả tương đương khi gây ra sự giải phóng IFN-γ như thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1 ái lực trưởng thành.

Họ cũng đã nghiên cứu các hiệu quả của thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8-gốc IgG-IL-2 qm lên sự kích thích của sự phosphoryl hóa STAT5 khi so với các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab và Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1 cũng như Proleukin lên các tế bào NK người, các tế bào T $CD4^+$, các tế bào T $CD8^+$ và các tế bào T_{reg} từ các PBMC người. Các kết quả của các thử nghiệm này được thể hiện ở Fig. 50. Đối với các tế bào NK và các tế bào T $CD8^+$ thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gốc 4G8- <10-lần ít hơn khi gây ra sự phosphoryl hóa STAT5 so với Proleukin, nhưng nhiều hơn một chút các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab và Fab-IL-2 qm-Fab gốc 28H1. Trên các tế bào T $CD4^+$, thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm gốc 4G8 giảm tiềm tàng hơn thể tiếp hợp miễn dịch 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab, nhưng nhiều hơn một chút so với thể tiếp hợp miễn dịch 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab, và vẫn đã thể hiện sự kích thích của sự phát tín hiệu IL-2R ở các nồng độ bão hòa có thể so sánh với Proleukin và 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab. Điều này là tương phản với các tế bào T_{reg} ở đó hiệu lực của các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 qm và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab gốc 4G8 được giảm đáng kể khi so với thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL-2 wt-Fab.

Việc tiến hành cùng IL-2 bội bốn đột biến được mô tả ở đây là có khả năng để hoạt hóa sự phát tín hiệu IL-2R thông qua chất dị dime βγ IL-2R tương tự với IL-2 dạng tự nhiên, mà không dẫn tới sự kích thích ưu tiên của các tế bào T_{reg} hơn các tế bào kích thích khác.

Ví dụ 8

Các hiệu quả kháng khối u của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab được đánh giá *in vivo* khi so với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 wt-Fab trong các kiểu ghép dị chủng ACHN và đồng gen LLC1. Tất cả các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2-Fab (bao gồm dạng tự nhiên hoặc IL-2 đột biến bội bốn) nhận biết FAP họ nhà chuột cũng như IL-2R họ nhà chuột. Trong khi kiểu ghép dị chủng ACHN trong chuột chuyển gen FcγRIII SCID-người là dương tính mạnh đối với FAP trong IHC, nó là kiểu không có khả năng miễn dịch và chỉ có thể phản ánh các cơ chế kích thích miễn dịch được trung gian bởi các tế bào NK và/hoặc các thể thực khuẩn lớn/các bạch cầu đơn nhân to, nhưng thiếu sự miễn dịch trung gian tế bào T và do đó không thể phản ánh AICD hoặc các hiệu quả các tế bào T_{reg} qua trung gian. Kiểu LLC1 đồng gen tương phản với chuột có khả năng miễn dịch hoàn toàn có thể phản ánh các cơ chế kích thích miễn dịch trung gian tế bào T thích ứng cũng như, nhưng thể hiện biểu hiện khá thấp của FAP trong chất đệm họ nhà chuột. Mỗi trong các kiểu này do đó phản ánh một phần trạng thái như đã gặp trong các khối u ở người.

Kiểu ghép dị chủng ung thư biểu mô tế bào thận ACHN

Các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab được thử nghiệm nhờ sử dụng dòng tế bào ACHN ung thư tuyến tế bào thận người, được tiêm trong thận trong chuột chuyển gen FcγRIII SCID người. Các tế bào ACHN đã thu được trước tiên từ ATCC (American Type Culture Collection) và sau khi mở rộng được lưu giữ trong ngân hàng tế bào nội bộ Glycart. Các tế bào ACHN được nuôi cấy trong DMEM có chứa 10% FCS, ở 37°C ở áp suất bão hòa-nước ở 5% CO_2. Vòi 18 *in vitro* được sử dụng để tiêm trong thận, ở khả năng sống sót 98,4%. Một vết rạch nhỏ (2 cm) được tiến hành ở sườn bên phải và vách màng bụng của chuột SCID được gây mê. 50 µl thể vẩn tế bào ($1x10^6$ các tế bào ACHN trong môi trường V Aim) được tiêm 2 mm dưới bao sau trong thận. Các vết thương ở da và vách màng bụng được khép

kín nhờ sử dụng các kẹp. Chuột SCID-FcγRIII cái (GLYCART-RCC), 8-9 tuần tuổi khi bắt đầu thử nghiệm (được sinh ở RCC, Switzerland) được duy trì dưới các điều kiện không có mầm bệnh đặc trưng với chu kỳ hằng ngày 12 giờ sáng/12 giờ tối theo các hướng dẫn đã cam kết (GV-Solas; Felasa; TierschG). Thử nghiệm nghiên cứu giao thức được cân nhắc và được chấp thuận bởi chính quyền địa phương (P 2008016). Sau khi đến, các động vật được duy trì trong một tuần để được làm quen với môi trường mới và để quan sát. Việc giám sát sức khỏe liên tục được tiến hành đều đặn. Chuột được tiêm trong thận vào ngày nghiên cứu 0 với $1x10^6$ các tế bào ACHN, được sắp xếp ngẫu nhiên và được cân. Một tuần sau khi tiêm tế bào khối u, chuột được tiêm vào tĩnh mạch với 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab ba lần một tuần trong ba tuần. Toàn bộ chuột được tiêm vào tĩnh mạch với 200 µl của dung dịch thích hợp. Chuột trong nhóm truyền được tiêm với PBS và các nhóm điều trị với thể tiếp hợp miễn dịch 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab hoặc 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng với PBS khi cần thiết. Fig. 25 thể hiện rằng cả hai thể tiếp hợp miễn dịch 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab được trung gian hiệu quả cao hơn về sự tồn tại trung gian được tăng cường khi so với nhóm truyền với sự thuận lợi đối với thể tiếp hợp miễn dịch 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab hơn 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab về mặt hiệu quả.

Bảng 14-A.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
4G8 Fab-IL-2-Fab dạng tự nhiên= FAP 4G8 wt	20 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	1,45
4G8 Fab-IL-2-Fab bội bốn đột biến= FAP 4G8 qm	20 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	4,25

Kiểu đồng gen ung thư biểu mô phổi Lewis LLC1

Các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab được thử nghiệm sử dụng dòng tế bào LLC1 ung thư biểu mô phổi Lewis động vật gặm nhấm, trong tĩnh mạch được tiêm vào chuột Đen 6. Các tế bào ung thư biểu mô phổi Lewis LLC1 trước tiên đã thu được từ ATCC và sau khi mở rộng được lưu giữ trong ngân hàng tế bào nội bộ Glycart. Dòng tế bào khối u thông thường được nuôi cấy trong DMEM có chứa 10 % FCS (Gibco) ở 37°C ở áp suất bão hòa-nước ở 5% CO_2. Vòi 10 được sử dụng để cấy ghép, ở khả năng sống sót 97,9%. $2x10^5$ các tế bào cho mỗi động vật được tiêm vào tĩnh mạch trong tĩnh mạch đuôi trong 200 µl của môi trường nuôi cấy tế bào V Aim (Gibco). Chuột Đen 6 (Charles River, Germany), 8-9 tuần tuổi ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm, được duy trì dưới các điều kiện không có mầm bệnh đặc trưng với chu kỳ hằng ngày 12 giờ sáng/12 giờ tối theo các hướng dẫn đã cam kết (GV-Solas; Felasa; TierschG). Giao thức nghiên cứu thử nghiệm được cân nhắc và được chấp thuận bởi chính quyền địa phương (P 2008016). Sau khi đến, các động vật được duy trì trong một tuần để được làm quen với môi trường mới và để quan sát. Việc giám sát sức khỏe liên tục được tiến hành đều đặn. Chuột được tiêm vào tĩnh mạch vào ngày nghiên cứu 0 với $2x10^5$ các tế bào LLC1, được sắp xếp ngẫu nhiên và được cân. Một tuần sau khi tiêm tế bào khối u, chuột được tiêm vào tĩnh mạch với 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab hoặc 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab, ba lần mỗi tuần trong ba tuần. Toàn bộ chuột được tiêm vào tĩnh mạch 200 µl dung dịch thích hợp. Chuột trong nhóm truyền được tiêm với PBS và điều trị nhóm với các cấu trúc 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab hoặc 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng với PBS khi cần thiết. Fig. 26 thể hiện rằng các cấu trúc 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab hoặc 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab ái lực trưởng thành được trung gian hiệu quả cao hơn về sự tồn tại trung gian được tăng cường khi so với nhóm truyền.

Bảng 14-B.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
28H1 Fab-IL-2-Fab bội bốn đột biến= FAP 28H1 qm	30 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	2,74
4G8 Fab-IL-2-Fab bội bốn đột biến= FAP 4G8 qm	30 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	4,25

Trong thử nghiệm khác, các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab được thử nghiệm trong cùng dòng tế bào LLC1 ung thư biểu mô phổi Lewis động vật gặm nhấm, trong tĩnh mạch được tiêm vào chuột Đen 6. Vòi 9 được sử dụng để cấy ghép, ở khả năng sống sót 94,5%. $2x10^5$ tế bào cho mỗi động vật được tiêm vào tĩnh mạch trong tĩnh mạch đuôi trong 200 µl của môi trường nuôi cấy tế bào V Aim (Gibco). Chuột được tiêm vào tĩnh mạch vào ngày nghiên cứu 0 với $2x10^5$ của các tế bào LLC1, được sắp xếp ngẫu nhiên và được cân. Một tuần sau khi tiêm tế bào khối u, chuột được tiêm vào tĩnh mạch với 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab hoặc 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab, ba lần mỗi tuần trong ba tuần. Toàn bộ chuột được tiêm vào tĩnh mạch 200 µl dung dịch thích hợp. Chuột trong nhóm truyền được tiêm với PBS và nhóm điều trị với các cấu trúc 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab hoặc 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng với PBS khi cần thiết. Fig. 27 thể hiện rằng các thể tiếp hợp miễn dịch 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab và 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab được trung gian hiệu quả cao hơn về sự tồn tại trung gian được tăng cường khi so với nhóm truyền với sự thuận lợi không đáng kể đối với thể tiếp hợp miễn dịch 28H1 Fab-IL-2 wt-Fab hơn 28H1 Fab-IL-2 qm-Fab về mặt hiệu quả.

Bảng 14-C.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
28H1 Fab-IL-2-Fab bội bốn đột biến= FAP 28H1 qm	45 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	2,74
28H1 Fab-IL-2-Fab dạng tự nhiên= FAP 28H1 wt	45 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	1,66

Ví dụ 9

Sau đó, FAP-hướng đích Fab-IL-2 qm-Fab gốc 4G8 khi được so với thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL-2 wt-Fab gốc 4G8 vào bảy ngày khi nghiên cứu độc tính tĩnh mạch và động độc lực ở chuột Đen 6. Bảng 15 thể hiện đề cương nghiên cứu của các nghiên cứu độc tính và động độc lực.

Bảng 15. Đề cương nghiên cứu.

Nhóm	Loại	Liều [µg/g]	Mục đích
1	DPBS	0	Đối chứng
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	Xác định độc tính
3		9,0	
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	
5		9,0	
6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	Nghiên cứu động độc lực
7		9,0	
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	
9		9,0	

Mục đích của nghiên cứu này là để mô tả và so sánh các tiểu sử độc tính và động độc lực của FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL2-Fab dạng tự nhiên (wt) interleukin-2 (IL-2) và FAP-hướng đích G48 Fab-IL-2-Fab IL-2 đột biến bội bốn (qm) sau khi một lần cung cấp hằng ngày trong tĩnh mạch cho không mang khối u chuột cái trong 7 ngày. Đối với nghiên cứu này, 5 nhóm của 5 chuột

cái/nhóm được cung cấp trong tĩnh mạch 0 (đối chứng truyền), 4,5 hoặc 9 µg/g/ngày wt IL-2, hoặc 4,5 hoặc 9 µg/g/ngày qm IL-2. 4 nhóm bổ sung của 6 chuột cái/nhóm được cung cấp 4,5 hoặc 9 µg/g/ngày wt IL-2, hoặc 4,5 hoặc 9 µg/g/ngày qm IL-2 để đánh giá các động độc lực. Thời gian nghiên cứu được thay đổi từ 7 ngày đến 5 ngày do các biểu hiện lâm sàng được quan sát ở các động vật được đưa ra 4,5 và 9 µg/g/ngày wt IL-2. Sự đánh giá về độc tính được dựa vào tỷ lệ tử vong, các quan sát thời gian tồn tại, trọng lượng cơ thể, và bệnh lý học giải phẫu và lâm sàng. Máu được thu ở các thời điểm khác nhau từ các động vật trong các nhóm động độc lực để phân tích động độc lực. Dữ liệu động độc lực đã thể hiện rằng chuột được xử lý bằng wt IL-2 hoặc qm IL-2 có các mức huyết tương đo được cho đến thời gian chảy máu cuối cùng, chỉ báo rằng chuột bị phơi cho các hợp chất tương ứng suốt thời gian điều trị. Các trị số AUC0-inf Ngày 1 đề xuất rằng có thể so sánh sự bộc lộ của wt IL-2 và qm IL-2 ở cả hai mức liều. Các mẫu rải rác được lấy vào Ngày 5 và đã thể hiện các huyết tương nồng độ tương đương với Ngày 1, đề xuất rằng không có sự tích tụ xảy ra sau 5 ngày của liều hoặc hợp chất. Để chi tiết hơn, các phát hiện sau được quan sát.

Các động độc lực

Bảng 16 tổng kết các thông số động độc lực huyết tương trung bình đối với FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab và FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab như được xác định bởi WinNonLin Phiên bản 5,2,1 và ELISA đặc trưng kappa có trên thị trường (Human Kappa ELISA Quantitation Set, Bethyl Laboratories).

Bảng 16.

Thông số	Các đơn vị	Nhóm 6 4G8-FAP-IL2 dạng tự nhiên	Nhóm 7 4G8-FAP-IL2 dạng tự nhiên	Nhóm 8 4G8-FAP-IL2 đột biến	Nhóm 9 4G8-FAP-IL2 đột biến
Ctối đa	ng/ml	47198	97986	60639	146416
Ctối	(ng/ml)/(ug/g)	0,011	0,011	0,0135	0,016

đa/liều					
AUC	ng*h/ml	331747	747449	355030	926683
AUC/liều	(ng*h/ml)/(ug/g)	0,074	0,083	0,079	0,103
T1/2z	h	3,6	3,11	4,3	3,12
Liều gốc	ug/g	4,5	9	4,5	9
Tuyến		IV	IV	IV	IV

* Các thông số TK được tính trong WinNonlin phiên bản 5.2.1 nhờ sử dụng phân tích không chia ngăn

Các nồng độ huyết thanh cá thể được đưa ra như sau:

Nhóm (liều)	Ngày lấy máu	Thời gian (giờ)	Động vật	Nồng độ huyết thanh (ng/ml)	Nồng độ trung bình (ng/ml)
Nhóm 6 (4,5 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab dạng tự nhiên	1	1	26	64241	47198
			27	30155	
	1	5,5	28	14693	15784
			29	16875	
	1	24	30	318	419
			31	520	
	5	5,5	29	13061	13335
			30	13620	
			31	13325	
Nhóm 7 (9 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab dạng tự nhiên	1	1	32	101208	97986
			33	94764	
	1	5,5	34	35766	34062
			35	32359	
	1	24	36	573	580
			37	588	
	5	5,5	32	31779	37473
			33	51143	
			35	53409	
			36	13562	

Nhóm 8 (4,5 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab đột biến	1	1	38 39	73326 47953	60639
	1	5,5	40 41	12168 14371	13269
	1	24	42 43	494 487	490
	5	5,5	40 41	6561 15352	10957
	5	24	38 39 42 43	608 543 1298 437	721
Nhóm 9 (9 µg/g) 4G8 Fab-IL2-Fab đột biến	1	1	44 45	162970 129862	146416
	1	5,5	46 47	20475 29125	24800
	1	24	48 49	478 509	493
	5	5,5	46 47	20504 75557	48031
	5	24	44 45 48 49	634 796 661 719	703

Dữ liệu này thể hiện rằng cả 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab và 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab thể hiện các đặc tính dược động học có thể so sánh với sự bộc lộ cao hơn một chút đối với 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab.

Tỷ lệ tử vong

Trong nhóm 9 µg/g FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, tỷ lệ tử vong có liên quan đến điều trị được xảy ra ở động vật trước khi khám nghiệm vào

Ngày 5. Sự hoạt hóa thấp, da lạnh, và tư thế gập cong được quan sát trước khi chết. Động vật này có khả năng chết do sự kết hợp của sự thâm nhiễm tế bào trong phổi cùng với sự phù và sự xuất huyết và hoại tử tủy xương được đánh dấu. Tỷ lệ tử vong được tóm tắt trong Bảng 17.

Bảng 17. Tỷ lệ tử vong ngày 5.

Nhóm	Loại	Liều [µg/g]	Phát hiện đã chết	Mức nghiêm trọng Chết**	Tổng số
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	0/5	5/5	5/5
3		9	1/5*	4/5	4/5
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	1/6	5/6	6/6
7		9	2/6	4/6	6/6
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

* trong tuyến khám nghiệm tử thi

** nghiên cứu được lập kế hoạch trogn 7 ngày nhưng toàn bộ chuột được xử lý bằng thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 dạng tự nhiên đã được tác động rõ ràng bởi ngày 5 và được cho chết khi chúng không biểu hiện sự sống.

Các quan sát lâm sàng

Các quan sát về sự hoạt hóa thấp, da lạnh, và tư thế gập cong được thông báo ở các động vật được truyền 4,5 và 9 µg/g/ngày wt IL-2. Các quan sát lâm sàng được tổng hợp trong Bảng 18.

Bảng 18. Các quan sát lâm sàng ngày 5.

Nhóm	Loại	Liều [µg/g]	Tư thế gập cong	Hoạt hóa thấp	Lạnh khi tiếp xúc
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	4/5	4/5	5/5

3		9	5/5	5/5	5/5
4	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	4G8 Fab-IL-2 wt-Fab	4,5	6/6	2/6	2/6
7		9	6/6	5/6	6/6
8	4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	4,5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

Trọng lượng cơ thể

Việc giảm vừa phải về trọng lượng cơ thể được quan sát sau 5 ngày điều trị ở các động vật được truyền 4,5 và 9 (9% và 11% tương ứng) µg/g/ngày wt IL-2. Việc giảm nhẹ về trọng lượng cơ thể được quan sát sau 5 ngày điều trị ở các động vật được truyền 4,5 hoặc 9 (2% và 1% tương ứng) µg/g/ngày qm IL-2. Việc giảm vừa phải (9%) về trọng lượng cơ thể cũng được quan sát ở các đối chứng truyền sau 5 ngày điều trị. Tuy nhiên, tỷ lệ giảm sẽ là 5% trong trường hợp phần tách ngoài tiềm tàng (Động vật #3) được ngăn chặn. Trọng lượng cơ thể giảm trong nhóm truyền có thể đã được quy cho tâm trạng căng thẳng.

Huyết học

Việc đếm tiểu cầu giảm được quan sát ở các động vật ước tính 4,5 (~4,5 lần) và 9 µg/g/ngày (~11 lần) 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, trong đó tương quan với các tế bào nhân khổng lồ giảm trong tủy xương cũng như các khả năng tác động bệnh lao phổi của cơ thể (fibrin) trong lá lách và phổi của các động vật này (xem phần Mô bệnh học dưới đây). Các phát hiện này đã biểu thị rằng các tiểu cầu giảm là phù hợp do các khả năng tác động kết hợp của bệnh lao phổi và giảm về tập hợp sản xuất/tủy xương do việc tăng về sự sản xuất tế bào limphô bào/tủy sống như một tác động trực tiếp hoặc gián tiếp của IL-2.

Các phát hiện về huyết học của mối quan hệ không bền với hợp chất cung cấp gồm có việc đếm limphô bào thuần túy giảm với 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab ở 4,5 (~5-lần) và 9 µg/g (~3-lần) khi so với giá trị trung bình của nhóm đối chứng truyền. Các phát hiện này không có sự phụ thuộc liều rõ ràng, nhưng có thể

được coi là thứ cấp cho các hiệu quả được kết hợp với tâm trạng căng thẳng được lưu ý trong các quan sát thời gian tồn tại hoặc dược lý tăng quá mức của hợp chất (sự di trú các limphô bào trong các mô). Không có các thay đổi về máu có liên quan đến điều trị được quy cho việc cung cấp của 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Một vài phát hiện về máu được phân lập là khác biệt về mặt thống kê so với các đối chứng tương ứng của chúng. Tuy nhiên, các phát hiện này không đủ độ lớn để đề xuất sự liên quan bất hợp lý.

Bệnh lý học và mô bệnh học tổng quát

Các phát hiện tổng liên quan đến điều trị bao gồm lá lách bổ sung được tìm thấy theo tỷ lệ 5/5 và 4/5 của các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab tương ứng, và theo tỷ lệ 1/5 ở cả các nhóm điều trị 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab.

Các phát hiện mô bệnh học liên quan đến điều trị có trong các nhóm ước tính 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab trong phổi, tủy xương, gan, lá lách, và tuyến úc, với các sự khác biệt về phạm vi tác động, sự phân loại hoặc bản chất tính nghiêm trọng của các thay đổi, như được báo cáo dưới đây.

Các phát hiện mô bệnh học liên quan đến điều trị trong phổi bao gồm sự thâm nhiễm đơn nhân đã phát hiện vừa phải để được đánh dấu theo tỷ lệ 5/5 của các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và vừa đủ theo tỷ lệ 5/5 của các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Sự thâm nhiễm đơn nhân bao gồm các limphô bào (một vài trong số đó được lưu ý khi có các hạt tế bào chất) cũng như các thể thực khuẩn lớn phản ứng lại. Các tế bào này hầu hết thường được lưu ý để có các mẫu gốc ống nhỏ, thường với sự tạo bờ được lưu ý trong các mạch ở phổi. Các tế bào này cũng được lưu ý quanh các mạch, nhưng ở các trường hợp nghiêm trọng hơn, mẫu gốc được phân tán hơn. Sự xuất huyết được quan sát rất thấp đến vừa theo tỷ lệ 5/5 của các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và vừa đủ theo tỷ lệ 2/5 trong nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Mặc dù sự xuất huyết hầu hết thường được quan sát quanh mạch, trong một vài

trường hợp nghiêm trọng, nó được lưu ý trong các khoảng trống túi phổi. Phù được quan sát vừa phải đến vừa theo tỷ lệ 5/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và vừa đủ theo tỷ lệ 5/5 trong nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Mặc dù sự phù được quan sát thường xuyên quanh mạch, trong một vài trường hợp nghiêm trọng, nó cũng được lưu ý trong các khoảng trống túi phổi. Sự thoái hóa tế bào rất thấp và quá trình phân rã nhân tế bào được lưu ý theo tỷ lệ 2/5 và 5/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, tương ứng và bao gồm sự thoái hóa của các bạch cầu thâm nhiễm hoặc phản ứng lại. Các động vật được chọn với các chất nhuộm màu MSB là dương tính đối với fibrin được tìm thấy trong phổi của các động vật ở cả hai nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab mà liên quan từng phần với các tiểu cầu giảm được quan sát trong các động vật này.

Các thay đổi có liên quan đến điều trị trong tủy xương bao gồm toàn bộ tủy cấu tạo bằng tế bào tăng rất thấp đến vừa theo tỷ lệ 5/5 và 2/5 của cả hai tỷ lệ 4,5 và 5/5 và tỷ lệ 2/5 của cả hai nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab, tương ứng. Điều này được đặc trưng bởi sự tăng sản limphô bào-tủy bào rất thấp đến vừa phải tăng trong các nhóm này đã được cấp, một phần, bởi số các tế bào T dương tính CD3 tăng trong tủy và các xoang (đặc biệt là các limphô bào T-, được xác nhận bởi mô hóa học miễn dịch với vật ghi tế bào T pan CD3 được tiến hành trên các động vật được chọn). Tế bào T dương tính CD3 tăng vừa phải ở cả hai nhóm 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và rất thấp đến vừa ở cả hai nhóm 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Giảm rất thấp đến vừa ở các tế bào nhân khổng lồ được quan sát theo tỷ lệ 2/5 theo tỷ lệ 4,5 và 5/5 trong các nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và giảm rất thấp đến vừa phải ở các chất mồi hồng cầu được lưu ý theo tỷ lệ 3/5 trong tỷ lệ 4,5 và 5/5 trong các nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab. Sự hoại tử tủy xương được lưu ý theo tỷ lệ 1/5 ở các nhóm Fab-IL-2 wt-Fab 4G8 4,5 (tối thiểu) và tỷ lệ 5/5 ở 9 (vừa phải để được đánh dấu) µg/g. Số lượng giảm của các tế bào nhân khổng lồ trong tủy xương có tương quan với các tiểu cầu giảm mà có thể là do sự tập hợp điều khiển của tủy xương bởi các limphô bào/các chất mồi tủy sống tăng và/hoặc sự hoại tử tủy xương, và/hoặc sự

tiêu diệt của các tiểu cầu do chứng viêm trong các mô khác nhau (xem, lá lách và phổi). Các chất mồi hồng cầu giảm được quan sát trong tủy xương, không tương quan với các phát hiện huyết học máu ngoại vi phù hợp do các tác động xương thái dương (xem trong tủy xương trước máu ngoại vi) và chu kỳ bán thải dài hơn của các hồng cầu ngoại vi (khi so với các tiểu cầu). Cơ chế của sự hoại tử tủy xương trong tủy xương có thể là thứ cấp do tình trạng dồn ứ rõ ràng của ổ tủy (do sự sản xuất và sinh trưởng của các limphô bào/các tế bào tủy sống), sự giải phóng cục bộ hoặc hệ thống của các xytokin từ các loại tế bào tăng sinh, có thể liên quan với các tác động cục bộ của sự giảm oxy mô hoặc các tác động dược lý khác của hợp chất.

Các phát hiện liên quan đến điều trị trong gan bao gồm sự thâm nhập tế bào đơn nhân ống nhỏ chính vừa phải đến vừa và sự hoại tử tế bào đơn rất thấp đến vừa theo tỷ lệ 5/5 của các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab. Sự hoại tử tế bào đơn rất thấp được quan sát theo tỷ lệ 2/5 và 4/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab, tương ứng. Đơn nhân thâm nhập bao gồm chủ yếu các limphô bào (đặc biệt là T-các limphô bào, được xác nhận bởi mô hóa học miễn dịch với vật ghi tế bào T pan CD3 được tiến hành trên các động vật được chọn) mà hầu hết thường được quan sát về ống nhỏ cũng như việc tạo bờ trong các mạch cổng chính và trung tâm. Các động vật được chọn đối với miễn dịch mô hóa học nhuộm màu để F4/80 đã thể hiện các số lượng và cỡ tăng (đã hoạt hóa) của các thể thực khuẩn lớn/các tế bào Kupffer thông qua các đường hình sin gan trong các nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab.

Các phát hiện liên quan đến điều trị trong lá lách bao gồm vừa phải cho sự tăng sản/sự thâm nhiễm mạch bạch huyết được đánh dấu và vừa phải cho sự tăng sản/sự thâm nhiễm thể thực khuẩn lớn vừa phải theo tỷ lệ 5/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và vừa phải cho sự tăng sản/sự thâm nhiễm mạch bạch huyết vừa phải với rất thấp đến vừa sự tăng sản/sự thâm nhiễm thể thực khuẩn lớn theo tỷ lệ 5/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Mô hóa học miễn dịch đối với 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab đã thể hiện các mẫu gốc khác nhau sử dụng vật ghi CD3

tế bào T pan-, cũng như vật ghi F4/80 thể thực khuẩn lớn. Đối với 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, mẫu gốc của tế bào T và thể thực khuẩn lớn tái hoạt hóa miễn dịch được duy trì trước tiên trong các vùng tủy đỏ, như cấu trúc của các nang sơ cấp đã được biến đổi bởi sự tiêu lympho bào và hoại tử (được mô tả sau đây). Đối với 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab, các chất nhuộm màu đặc biệt đã thể hiện mẫu gốc tương tự với chúng của đối chứng truyền, mà với sự mở rộng tủy trắng vỏ mạch bạch huyết động mạch biên (PALS), bởi quần thể tế bào T và lớn hơn, vùng tủy đỏ được mở rộng. Sự chắc chắn tế bào T và thể thực khuẩn lớn cũng là hiển nhiên bên trong tủy đỏ, với mẫu gốc tương tự với nhóm đối chứng truyền, nhưng được mở rộng. Các phát hiện này tương quan với tổng các phát hiện của lá lách được mở rộng. Hoại tử được lưu ý vừa đủ theo tỷ lệ 3/5 và vừa đủ đến vừa theo tỷ lệ 5/5 trong các nhóm 4,5 và 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, tương ứng. Hoại tử thường được đặt quanh vùng của các nang chính và các động vật được chọn nhờ sử dụng chất nhuộm màu MSB là dương tính đối với fibrin ở cả hai nhóm 4,5 và 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab mà tương quan từng phần với các tiểu cầu giảm được quan sát thấy trong các động vật này. Sự tiêu lympho bào được quan sát trong các nhóm 4,5 μg/g (rất nhỏ đến vừa) và 9 μg/g (vừa phải để được đánh dấu) 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab.

Các phát hiện liên quan đến điều trị trong tuyến úc bao gồm tăng rất nhỏ đến vừa trong các limphô bào ở cả hai nhóm 4,5 và 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và ở 4,5 ug/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Vỏ não và tủy xương không biểu hiện riêng, trong các nhóm 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, mà mô hóa học miễn dịch đối với vật ghi tế bào T pan (CD3) trên các động vật được chọn trong các nhóm 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab đã thể hiện sự chắc chắn mạnh đối với phần lớn các tế bào bên trong tuyến úc. Các limphô bào tăng trong tuyến úc được coi là để trở thành tác động dược lý trực tiếp của cả hai hợp chất khi IL-2 gây ra sự tăng sinh của sự di trú các limphô bào đến tuyến úc (các tế bào T) từ tủy xương để mở rộng phân biệt và bản sao thêm. Điều này đã xảy ra trong tất cả các nhóm ngoại trừ 9 μg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab, mà như khả năng tác động xương thái dương. Sự tiêu lympho bào là vừa đủ trong nhóm 4,5 μg/g

4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, và là vừa phải để được đánh dấu trong nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab. Sự làm suy yếu mạch bạch huyết vừa phải được lưu ý trong cả hai nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab. Trong khi các phát hiện này xuất hiện khỏe hơn trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab, các động vật này được mô tả khi hấp hối vào Ngày 5, và vừa phải cho sự tiêu lympho bào được đánh dấu cũng như sự làm suy yếu mạch bạch huyết vừa phải có thể có liên quan đến quan sát thời gian tồn tại này (các khả năng tác động có liên quan đến tâm trạng căng thẳng do tình trạng cơ thể kém).

Các phát hiện mô bệnh học về các mối quan hệ không chắc chắn để hợp chất cung cấp trong gan bao gồm tế bào được pha trộn rất thấp (các limphô bào và các thể thực khuẩn lớn) thâm nhập/hoạt hóa được lưu ý như ổ bệnh/các vi u hạt nhỏ được phân bố ngẫu nhiên toàn bộ gan theo tỷ lệ 5/5 ở cả hai nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Sự thay đổi rất thấp này cũng được quan sát trong nhóm đối chứng truyền nhưng với phạm vi tác động và tính nghiêm trọng nhỏ hơn. Sự nở và teo tuyến dạ dày được quan sát vừa đủ đến vừa theo tỷ lệ 5/5 và sự teo long nhung xương chậu được quan sát vừa đủ theo tỷ lệ 3/5 trong nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab. Phát hiện này là phù hợp nhất được quy cho tình trạng cơ thể kém đã quan sát theo tỷ lệ này như trọng lượng cơ thể giảm, đặc biệt là trong nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab được lưu ý trong các quan sát về thời gian tồn tại.

Các phát hiện vị trí tiêm được bao gồm sự thâm nhập tế bào được pha trộn, phù ngoại vi mạch, và sự thoái hóa cơ được nhận thấy đều nhau trong đối chứng truyền, các nhóm 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab. Một động vật có hoại tử biểu bì. Các phát hiện này không được quy cho để tự điều trị, mà để tiêm hằng ngày vào tĩnh mạch và xử lý của đuôi. Động vật khác có sự thâm nhiễm thể thực khuẩn lớn của cơ xương được lưu ý trên phần mô học mô phổi) được kết hợp với sự thoái hóa cơ và sự tái sinh cơ thích hợp do vết thương mãn tính và không được quy cho việc điều trị. Sự làm suy yếu mạch bạch huyết rất thấp được lưu ý theo tỷ lệ 3/5 và 4/5 trong các nhóm 4,5 và 9 µg/g 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab, tương ứng và thích hợp nhất được quy cho các thay

đổi sinh lý học thông thường đã thấy trong tuyến úc như chuột trở nên già hơn (cũng được quan sát thấy trong phạm vi tác động tương tự, 4/5 chuột, và mức độ nghiêm trọng trong các động vật đối chứng truyền).

Cuối cùng, việc cung cấp trong tĩnh mạch hằng ngày của 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab hoặc 4G8 Fab-IL-2 qm-Fab ở các liều 4,5 hoặc 9 μg/g/ngày để lên đến 5 ngày ở chuột cái đã dẫn tới các phát hiện mô học có liên quan đến điều trị tương tự với cả hai hợp chất. Tuy nhiên, các phát hiện nhìn chung là phổ biến hơn và khắt khe hơn với FAP-hướng đích 4G8 Fab-IL-2 wt-Fab trong phổi (Fig. 28 và 29) (sự thâm nhiễm đơn nhân bao gồm các limphô bào và các thể thực khuẩn lớn phản ứng lại, sự xuất huyết, và phù), tủy xương (sự tăng sản lympho-myelo và cấu tạo bằng tế bào tăng), gan (Fig. 30) (hoại tử tế bào đơn, tế bào Kupffer/thể thực khuẩn lớn tăng về số lượng và sự hoạt hóa), lá lách (được mở rộng toàn bộ, thể thực khuẩn lớn và sự thâm nhiễm/sự tăng sản limphô bào) và tuyến úc (các limphô bào tăng). Ngoài ra, tỷ lệ tử vong, sự tiêu lympho bào, hoại tử hoặc sự thoái hóa tế bào trong phổi, lá lách, tủy xương, và tuyến úc, cũng như các tế bào nhân khổng lồ và các hồng cầu giảm trong tủy xương và các tiểu cầu giảm trong máu ngoại vi chỉ được phát hiện ở các động vật được truyền wt IL-2. Dựa vào các phát hiện bệnh lý giải phẫu học và lâm sàng, cũng như các quan sát lâm sàng, và sự lộc lộ cơ thể nói chung có thể so sánh của cả hai hợp chất, qm IL-2 dưới các điều kiện của nghiên cứu này đã biểu hiện độc tính cơ thể sau 5 liều giảm đáng kể hơn wt IL-2.

Ví dụ 10

Sự kích thích của sự bài tiết IFN-γ tế bào NK bởi IL-2 dạng tự nhiên và đột biến bội bốn

Các tế bào NK-92 được để đói trong 2 giờ trước khi cấy 100.000 tế bào/giếng trong tấm 96 giếng đáy-F. Các cấu trúc IL-2 được chuẩn độ trên các tế bào NK-92 được cấy. Sau 24 giờ hoặc 48 giờ, các tấm được phân ly trước khi gom các thể nổi để xác định số lượng IFN-γ người bằng cách sử dụng ELISA IFN- γ có trên thị trường (BD #550612).

Hai sự điều chế nội bộ khác nhau của IL-2 dạng tự nhiên (chắc chắn khác biệt một chút về các tiểu sử sơ lược O-glycosyl hóa của chúng, xem Ví dụ 2), IL-2 dạng tự nhiên (Proleukin) có sẵn trên thị trường và IL-2 đột biến bội bốn được điều chế nội bộ (mẻ thứ nhất) được thử nghiệm.

Fig. 31 thể hiện rằng IL-2 đột biến bội bốn là cũng tiềm tàng như IL-2 đã thu được trên thị trường (Proleukin) hoặc dạng tự nhiên được tạo ra nội bộ khi gây ra sự bài tiết IFN-γ bởi các tế bào NK trong 24 (A) hoặc 48 giờ (B).

Ví dụ 11

Sự kích thích của sự tăng sinh tế bào NK bởi IL-2 dạng tự nhiên và đột biến bội bốn

Các tế bào NK-92 được để đói trong 2 giờ trước khi cấy 10000 tế bào/giếng trong các tấm 96 giếng trong-F-đen. Các cấu trúc IL-2 được chuẩn độ trên các tế bào NK-92 được cấy. Sau 48 giờ, hàm lượng ATP được đo để xác định số lượng các tế bào sống sót bằng Kit "Thử nghiệm khả năng sống sót tế bào phát quang CellTiter-Glo" từ Promega theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Các điều chế IL-2 tương tự như trong Ví dụ 10 được thử nghiệm.

Fig. 32 thể hiện rằng tất cả các phân tử được thử nghiệm là có khả năng gây ra sự tăng sinh của các tế bào NK. Ở các nồng độ thấp (< 0,01 nM) IL-2 đột biến bội bốn hoạt hóa nhỏ hơn một chút IL-2 dạng tự nhiên được tạo ra nội bộ, và tất cả các điều chế nội bộ hoạt hóa nhỏ hơn IL-2 dạng tự nhiên đã thu được trên thị trường (Proleukin).

Trong thử nghiệm thứ hai, các điều chế IL-2 sau được thử nghiệm: IL-2 dạng tự nhiên (bể 2), IL-2 đột biến bội bốn (mẻ thứ nhất và thứ hai).

Fig. 33 thể hiện rằng tất cả các phân tử được thử nghiệm là khoảng hoạt hóa tương tự khi gây ra sự tăng sinh của các tế bào NK, với hai điều chế IL-2 đột biến chỉ là sự hoạt hóa nhỏ nhất tối thiểu hơn các điều chế IL-2 dạng tự nhiên ở các nồng độ thấp nhất.

Ví dụ 12

Sự kích thích của sự tăng sinh PBMC người bằng các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm dạng tự nhiên hoặc IL-2 đột biến bội bốn

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) được điều chế bằng cách sử dụng Histopaque-1077 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, USA). Tóm lại, máu trong tĩnh mạch từ những người tình nguyện khỏe mạnh được rút ra trong các ống tiêm được eparin hóa. Máu được pha loãng 2:1 với PBS giải phóng canxi và magiê, và được xắp từng lớp trên Histopaque-1077. Građien được phân ly ở 450 x g trong 30 phút ở nhiệt độ phòng (RT) không dừng. Kỳ gian phân có chứa PBMCs được gom và được rửa ba lần bằng PBS (350 x g tiếp theo bằng 300 x g trong 10 phút ở nhiệt độ phòng).

Sau đó, PBMCs được dán nhãn với 40 nM CFSE (este cacboxyfluorescein suxinimidyl) trong 15 phút ở 37°C. Các tế bào được rửa bằng 20 ml trung gian trước khi lấy lại để được dán nhãn PBMC trong 30 phút ở 37°C. Các tế bào được rửa, được đếm, và 100.000 tế bào được cấy trong các tấm 96-giếng-đáy chữ U-. Proleukin được pha loãng trước (IL-2 dạng tự nhiên có sẵn trên thị trường) hoặc các thể tiếp hợp miễn dịch IL2- được chuẩn độ trên các tế bào được cấy mà được nuôi cấy cho các điểm thời gian được biểu thị. Sau 4-6 ngày, các tế bào được rửa, được đổi màu đối với các vật ghi bề mặt tế bào phù hợp, và được phân tích bằng FACS sử dụng BD FACSCantoII. Các tế bào NK được xác định như các tế bào T $CD3^-/CD56^+$, CD4 như các tế bào T $CD3^+/CD8^-$, và CD8 như $CD3^+/CD8^+$.

Fig. 34 thể hiện sự tăng sinh của các tế bào NK sau khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày. Tất cả các cấu trúc được thử nghiệm gây ra sự tăng sinh tế bào NK theo cách phụ thuộc nồng độ. Proleukin là có hiệu quả hơn các thể tiếp hợp miễn dịch ở các nồng độ thấp hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không tồn tại dài hơn ở các nồng độ cao hơn,. Ở các điểm thời gian sớm hơn (ngày 4), các cấu trúc IgG-IL2 đã xuất hiện tiềm tàng hơn một chút các cấu trúc Fab-IL2-Fab. Ở các điểm

thời gian muộn hơn (ngày 6), tất cả các cấu trúc có hiệu quả có thể so sánh được, với cấu trúc Fab-IL2 qm-Fab là ít tiềm tàng nhất ở các nồng độ thấp.

Fig. 35 thể hiện sự tăng sinh của các tế bào T CD4 sau khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày. Tất cả các cấu trúc được thử nghiệm gây ra sự tăng sinh tế bào T CD4 theo cách phụ thuộc nồng độ. Proleukin có tính hoạt hóa cao hơn các thể tiếp hợp miễn dịch, và các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 dạng tự nhiên là tiềm tàng hơn một chút các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 đột biến bội bốn. Như đối với các tế bào NK, cấu trúc Fab-IL2 qm-Fab có tính hoạt hóa thấp nhất. Thích hợp nhất là các tế bào T CD4 tăng sinh là các tế bào T điều tiết một phần, ít nhất cho các cấu trúc IL-2 dạng tự nhiên.

Fig. 36 thể hiện sự tăng sinh của các tế bào T CD8 sau khi nuôi cấy với các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích 28H1 IL-2 khác trong 4 (A), 5 (B) hoặc 6 (C) ngày. Tất cả các cấu trúc được thử nghiệm gây ra sự tăng sinh tế bào T CD8 theo cách phụ thuộc nồng độ. Proleukin có tính hoạt hóa cao hơn các thể tiếp hợp miễn dịch, và các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 dạng tự nhiên là tiềm tàng hơn một chút các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm IL-2 đột biến bội bốn. Như đối với các tế bào T NK và CD4, cấu trúc Fab-IL2 qm-Fab có tính hoạt hóa thấp nhất.

Fig. 37 miêu tả các kết quả của thử nghiệm khác, trong đó FAP-hướng đích 28H1 IgG-IL-2, bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, và Proleukin được so sánh. Thời gian nuôi cấy là 6 ngày. Như được thể hiện ở Fig., tòan bộ ba cấu trúc gây ra sự tăng sinh tế bào T NK (A) và CD8 (C) theo cách phụ thuộc liều với hiệu lực tương tự IL-2. Đối với các tế bào T CD4 (B), thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL2 qm có hoạt tính thấp hơn, cụ thể là ở các nồng độ trung bình, mà có thể là do sự thiếu hụt các tế bào T hoạt hóa trên CD25-dương tính của nó (bao gồm sự điều tiết) là tập hợp con của các tế bào T CD4.

Ví dụ 13

Sự hoạt hóa tế bào phản ứng kích thích bởi IL-2 dạng tự nhiên và đột biến bội bốn (thử nghiệm pSTAT5)

PBMC được điều chế như được mô tả ở trên. 500000 PBMC/giếng được cấy trong các tấm 96 giếng đáy hình chữ U và để yên 45 phút ở 37°C trong môi trường RPMI có chứa 10% FCS và 1% Glutamax (Gibco). Sau đó, các PBMC được nuôi cấy với Proleukin, IL-2 dạng tự nhiên hoặc IL-2 đột biến bội bốn được tạo ra nội bộ ở các nồng độ chỉ định trong 20 phút ở 37°C để gây ra sự phosphoryl hóa của STAT5. Sau đó, các tế bào được cố định tức thì (đệm Cytofix BD) trong 10 phút ở 37°C và được rửa một lần, tiếp theo bằng bước đo khả năng thấm (đệm III BD Phosdòng chảy Perm) trong 30 phút ở 4°C. Sau đó, các tế bào được rửa với PBS/0,1% BSA và được đổi màu với các hỗn hợp của các kháng thể FACS để phát hiện các tế bào NK ($CD3^-/CD56^+$), các tế bào T $CD8^+$ ($CD3^+/CD8^+$), các tế bào T $CD4^+$ ($CD3^+/CD4^+/CD25^-/CD127^+$) hoặc các tế bào T_{reg} ($CD4^+/CD25^+/CD127^-/FoxP3^+$), cũng như pSTAT5 trong 30 phút ở nhiệt độ phòng trong bong tối. Các tế bào được rửa hai lần với PBS/0,1% BSA và được tái huyền phù trong 2% PFA trước khi phân tích dòng tế bào (BD FACSCantoII).

Fig. 38 thể hiện sự phosphoryl hóa STAT trong các tế bào NK (A), các tế bào T CD8 (B), các tế bào T CD4 (C) và các tế bào T điều tiết (D) sau 30 phút nuôi cấy với Proleukin, IL-2 dạng tự nhiên (bể 2) và IL-2 đột biến bội bốn (mẻ 1) được tạo ra nội bộ. Toàn bộ ba điều chế IL-2 là cùng tiềm tàng khi gây ra sự phosphoryl hóa STAT trong NK cũng như các tế bào T CD8. Trong các tế bào T CD4 và thậm chí cũng nhiều hơn trong các tế bào T điều tiết, các điều chế IL-2 đột biến bội bốn có hoạt tính thấp hơn IL-2 dạng tự nhiên.

Ví dụ 14

Sự hoạt hóa tế bào phản ứng kích thích bởi IgG-IL-2 dạng tự nhiên và bội bốn đột biến (thử nghiệm pSTAT5)

Các điều kiện thí nghiệm là như được mô tả ở trên (xem Ví dụ 13).

Fig. 39 thể hiện sự phosphoryl hóa STAT trong các tế bào NK (A), các tế bào T- CD8 (B), các tế bào T- CD4 (C) và các tế bào T- điều tiết (D) sau 30 phút nuôi cấy với Proleukin, IgG-IL-2 bao gồm IL-2 dạng tự nhiên hoặc IgG-IL-2 bao gồm IL-2 đột biến bội bốn. Trên tất cả các loại tế bào Proleukin là tiềm tàng khi gây ra sự phosphoryl hóa STAT hơn các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2. Các cấu trúc IgG-IL-2 dạng tự nhiên và bội bốn đột biến là tiềm tàng như trong các tế bào T- NK cũng như CD8. Trong các tế bào T- CD4 và thậm chí rất nhiều hơn trong các tế bào T- điều tiết, IgG-IL-2 bội bốn đột biến có hoạt tính thấp hơn thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL-2 dạng tự nhiên.

Ví dụ 15

Liều chịu được tối đa (MTD) của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL2 wt-Fab và Fab-IL2 qm-Fab

Các liều tăng của các thể tiếp hợp miễn dịch FAP-hướng đích Fab-IL2-Fab, bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên (wt) hoặc bội bốn đột biến (qm), được thử nghiệm trong 6 chuột đen có khả năng miễn dịch giải phóng khối u.

Sáu con chuột cái đen (Charles River, Germany), 8-9 tuần tuổi ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm, được duy trì dưới các điều kiện không có mầm bệnh đặc trưng với chu kỳ hằng ngày 12 giờ sáng/12 giờ tối theo các hướng dẫn đã cam kết (GV-Solas; Felasa; TierschG). Giao thức nghiên cứu thử nghiệm được cân nhắc và được chấp thuận bởi chính quyền địa phương (P 2008016). Sau khi đến, các động vật được duy trì trong một tuần để được làm quen với môi trường mới và để quan sát. Việc giám sát sức khỏe liên tục được tiến hành đều đặn.

Chuột được tiêm vào tĩnh mạch một lần một ngày trong 7 ngày bằng 4G8 Fab-IL2 wt-Fab ở các liều 60, 80 và 100 µg/động vật gặm nhấm hoặc 4G8 Fab-IL2 qm-Fab ở các liều 100, 200, 400, 600 và 1000 µg/động vật gặm nhấm. Toàn bộ chuột được tiêm vào tĩnh mạch bằng 200 µl của dung dịch thích hợp. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng bằng PBS khi cần.

Fig. 40 thể hiện rằng MTD (liều chịu được tối đa) đối vơis Fab-IL2 qm-Fab là cao hơn 10-lần đối với Fab-IL2 wt-Fab, cụ thể là 600 µg/động vật gặm nhấm hằng ngày trong 7 ngày đối với Fab-IL2 qm-Fab và 60 µg/động vật gặm nhấm hằng ngày trong 7 ngày đối với Fab-IL2 wt-Fab.

Bảng 19.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
4G8 Fab-IL2 wt-Fab	60, 80, 100 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	3,32 (= dung dịch có sẵn)
4G8 Fab-IL2 qm-Fab	100, 200, 400, 600, 1000 µg	25 mM kali phosphat, 125 mM NaCl, 100 mM glyxin, pH 6,7	4,25 (= dung dịch có sẵn)

Ví dụ 16

Dược động học của liều duy nhất của FAP-hướng đích và IgG-IL2 không hướng đích wt và qm

Các nghiên cứu dược động học liều duy nhất (PK) được thực hiện trong 129 chuột có khả năng miễn dịch giải phóng khối u cho các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL2 FAP-hướng đích bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn, và các thể tiếp hợp miễn dịch IgG-IL2 không hướng đích bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn.

129 chuột cái (Harlan, United Kingdom), 8-9 tuần tuổi ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm, được duy trì dưới các điều kiện không có mầm bệnh đặc trưng với chu kỳ hằng ngày 12 giờ sáng/12 giờ tối theo các hướng dẫn đã cam kết (GV-Solas; Felasa; TierschG). Giao thức nghiên cứu thử nghiệm được cân nhắc và được chấp thuận bởi chính quyền địa phương (P 2008016). Sau khi đến, các động vật được duy trì trong một tuần để được làm quen với môi trường mới và để quan sát. Việc giám sát sức khỏe liên tục được tiến hành đều đặn.

Chuột được tiêm vào tĩnh mạch một lần bằng FAP-hướng đích 28H1 IgG-IL2 wt (2,5 mg/kg) hoặc 28H1 IgG-IL2 qm (5 mg/kg), hoặc DP47GS IgG-IL2 không hướng đích wt (5 mg/kg) hoặc DP47GS IgG-IL2 qm (5 mg/kg). Toàn bộ chuột được tiêm vào tĩnh mạch bằng 200 µl của dung dịch thích hợp. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng bằng PBS khi cần.

Chuột được lấy máu ở 1, 8, 24, 48, 72, 96 giờ; và hằng 2 ngày sau đó trong 3 tuần. Máu được chiết và được bảo quản ở -20°C đến khi phân tích ELISA. Các nồng độ thể tiếp hợp miễn dịch trong huyết thanh được xác định nhờ sử dụng ELISA để xác định số lượng của thể tiếp hợp miễn dịch kháng thể IL2- (Roche-Penzberg). Sự hấp thu được đo nhờ sử dụng bước sóng đo 405 nm và bước sóng tham chiếu 492 nm (VersaMax tunable microplate reader, Molecular Devices).

Fig. 41 thể hiện các dược động học của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 này. Cả hai cấu trúc FAP-hướng đích (A) và không hướng đích (B) IgG-IL2 qm có chu kỳ bán thải huyết thanh (xấp xỉ 30 giờ) dài hơn các cấu trúc IgG-IL2 wt tương ứng (xấp xỉ 15 giờ).

Bảng 20.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
28H1-IgG-IL2 wt	2,5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	3,84 (= dung dịch có sẵn)
28H1-IgG-IL2 qm	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	2,42 (= dung dịch có sẵn)
DP47GS-IgG-IL2wt	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	3,74 (= dung dịch có sẵn)
DP47GS-IgG-IL2QM	5 mg/kg	20 mM Histidin, 140 mM NaCl, pH 6,0	5,87 (= dung dịch có sẵn)

Ví dụ 17

Dược động học của liều đơn của Fab-IL2 wt-Fab và Fab-IL2 qm-Fab không hướng đích

Các nghiên cứu dược động học liều duy nhất (PK) được thực hiện trong 129 chuột có khả năng miễn dịch giải phóng khối u cho các thể tiếp hợp miễn dịch Fab-IL2-Fab không hướng đích bao gồm hoặc IL-2 dạng tự nhiên hoặc đột biến bội bốn.

129 chuột cái (Harlan, United Kingdom), 8-9 tuần tuổi ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm, được duy trì dưới các điều kiện không có mầm bệnh đặc trưng với chu kỳ hằng ngày 12 giờ sáng/12 giờ tối theo các hướng dẫn đã cam kết (GV-Solas; Felasa; TierschG). Giao thức nghiên cứu thử nghiệm được cân nhắc và được chấp thuận bởi chính quyền địa phương (P 2008016). Sau khi đến, các động vật được duy trì trong một tuần để được làm quen với môi trường mới và để quan sát. Việc giám sát sức khỏe liên tục được tiến hành đều đặn.

Chuột được tiêm vào tĩnh mạch một lần bằng DP47GS Fab-IL2 wt-Fab ở liều 65 nmol/kg hoặc DP47GS Fab-IL2 qm-Fab ở liều 65 nM/kg. Tất cả chuột được tiêm vào tĩnh mạch bằng 200 µl của dung dịch thích hợp. Để thu được lượng thích hợp của thể tiếp hợp miễn dịch cho mỗi 200 µl, các dung dịch có sẵn được pha loãng bằng PBS khi cần.

Chuột được lấy máu ở 0,5, 1, 3, 8, 24, 48, 72, 96 giờ và sau đó hằng 2 ngày trong 3 tuần. Máu được chiết và được bảo quản ở -20°C đến khi phân tích ELISA. Các nồng độ thể tiếp hợp miễn dịch trong huyết thanh được xác định nhờ sử dụng ELISA để xác định số lượng của thể tiếp hợp miễn dịch kháng thể IL2- (Roche-Penzberg). Sự hấp thu was được đo nhờ sử dụng bước sóng đo 405 nm và bước sóng tham chiếu 492 nm (VersaMax tunable microplate reader, Molecular Devices).

Fig. 42 thể hiện các dược động học của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 này. Các cấu trúc Fab-IL2-Fab wt và qm có chu kỳ bán thải huyết thanh xấp xỉ 3-4 giờ. Sự khác biệt về chu kỳ bán thải huyết thanh giữa các cấu trúc bao gồm

IL-2 đột biến bội bốn hoặc dạng tự nhiên được tuyên bố nhỏ hơn đối với các cấu trúc than Fab-IL2-Fab cho các thể tiếp hợp miễn dịch như IgG, trong đó tự nó có các chu kỳ bán thải dài hơn.

Bảng 21.

Hợp chất	Liều	Đệm công thức	Nồng độ (mg/mL)
DP47GS Fab-IL2 wt-Fab	65 nM/kg	100 mM glyxin, 125 mM NaCl, 25 mM KH_2PO_4, pH 6,7	3,84 (= dung dịch có sẵn)
DP47GS Fab-IL2 qm-Fab	65 nM/kg	100 mM glyxin, 125 mM NaCl, 25 mM KH_2PO_4, pH 6,7	2,42 (= dung dịch có sẵn)

Ví dụ 18

Sự hoạt hóa gây ra chết tế bào của PBMCs hoạt hóa IL-2

Các PBMC được phân lập mới từ những người cho khỏe mạnh được hoạt hóa trước qua đêm bằng PHA-M ở 1 µg/ml trong RPMI1640 với 10% FCS và 1% Glutamin. Sau khi PBMCs hoạt hóa trước được thu hoạch, được dán nhãn với 40 nM CFSE trong PBS, và được cấy và các tấm 96 giếng ở 100.000 tế bào/giếng. PBMC được hoạt hóa trước được kích thích với các nồng độ khác nhau của các thể tiếp hợp miễn dịch IL-2 (4B9 IgG-IL-2 wt, 4B9 IgG-IL-2 qm, 4B9 Fab-IL-2 wt-Fab, và 4B9 Fab-IL-2 qm-Fab). Sau 6 ngày của PBMC điều trị IL-2 được xử lý bằng 0,5 µg/ml hoạt hóa kháng thể kháng Fas qua đêm. Sự tăng sinh của các tế bào T CD4 ($CD3^+CD8^-$) và CD8 ($CD3^+CD8^+$) được phân tích sau 6 ngày bằng CFSE pha loãng. Tỷ lệ của các tế bào T sống sau khi điều trị kháng Fas được xác định bởi sự kiểm soát trên các tế bào sống âm tính $CD3^+$ Annexin V.

Như được thể hiện ở Fig. 44, tất cả các cấu trúc gây ra sự tăng sinh của các tế bào T được hoạt hóa trước. Ở các nồng độ thấp các cấu trúc bao gồm IL-2

dạng tự nhiên wt được hoạt hóa hơn các cấu trúc bao gồm IL-2 qm-. IgG-IL-2 wt, Fab-IL-2 wt-Fab và Proleukin có hoạt tính giống nhau. Fab-IL-2 qm-Fab hoạt hóa ít hơn không đáng kể IgG-IL-2 qm. Các cấu trúc bao gồm IL-2 dạng tự nhiên trên các tế bào T CD4 được hoạt hóa hơn trên các tế bào T CD8, tốt hơn nữa là vì sự hoạt hóa của các tế bào T điều tiết. Các cấu trúc bao gồm IL-2 đột biến bội bốn hoạt hóa giống nhau trên các tế bào T CD8 và CD4.

Như được thể hiện ở Fig. 45, Các tế bào T được kích thích với các nồng độ cao của IL-2 dạng tự nhiên với sự tự sát của tế bào gây ra kháng Fas là nhạy hơn các tế bào T được xử lý bằng IL-2 đột biến bội bốn.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả chi tiết bởi sự miêu tả và ví dụ với mục đích làm rõ các phương án thực hiện cụ thể, nhưng phần mô tả và các ví dụ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế. Sự bộc lộ về tất cả các tài liệu sáng chế và tài liệu khoa học được dẫn chứng ở đây được kết hợp bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit interleukin-2 (IL-2) đột biến, trong đó polypeptit này bao gồm ba sự biến đổi axit amin làm mất hoặc làm giảm ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực cao và bảo tồn ái lực của polypeptit IL-2 đột biến với thụ thể IL-2 ái lực trung gian, mỗi sự biến đổi này so với polypeptit IL-2 dạng tự nhiên, trong đó ba sự biến đổi các axit amin này là ở các vị trí tương ứng với gốc 42, 45 và 72 của IL-2 người.

2. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 1, trong đó ba sự biến đổi axit amin này là các sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R và L72K.

3. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 2, trong đó sự biến đổi axit amin này ở vị trí tương ứng với vị trí 72 của IL-2 người là sự thay thế axit amin L72G.

4. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 3, trong đó sự biến đổi axit amin này ở vị trí tương ứng với vị trí 42 của IL-2 người là sự thay thế axit amin F42A.

5. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 4, trong đó sự biến đổi axit amin này ở vị trí tương ứng với vị trí 45 của IL-2 người là sự thay thế axit amin Y45A.

6. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 5, trong đó ba sự thay thế axit amin này là các thay thế axit amin F42A, Y45A và L72G.

7. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 6, còn bao gồm sự biến đổi axit amin trong đó loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người.

8. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 7, trong đó sự biến đổi axit amin này loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người là sự thay thế axit amin được chọn từ nhóm T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K và T3P.

9. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 7 hoặc 8, trong đó sự biến đổi axit amin này loại trừ vị trí O-glycosyl hóa của IL-2 ở vị trí tương ứng với gốc 3 của IL-2 người là sự thay thế axit amin T3A.

10. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 9, trong đó polypeptit IL-2 đột biến này là phân tử IL-2 của người.

11. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 10, trong đó polypeptit IL-2 đột biến này bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19.

12. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 11, trong đó kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm protein hoạt hóa nguyên bào sợi (FAP), miền A1 của Tenasxin-C (TNC A1), miền A2 của Tenasxin-C (TNC A2), miền B phụ của Fibronectin (EDB), kháng nguyên Carcinoembryonic (CEA) và Chondroitin Sulfat Proteoglycan có liên quan đến khối u ác tính (MCSP).

13. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 12, trong đó kháng nguyên này là FAP.

14. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 13, trong đó kháng nguyên này gắn kết gốc trực tiếp với FAP bao gồm (i) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 41 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 39; (ii) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 51 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 49; (iii) trình tự vùng biến đổi

chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 111 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 109; (iv) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 143 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 141; hoặc (v) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 151 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 149.

15. Polypeptit interleukin-2 đột biến theo điểm 14, trong đó polypeptit này bao gồm (i) trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 297, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 299, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 233; (ii) trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 303, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 231; hoặc (iii) trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 315, trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 317, và trình tự polypeptit có mức độ tương đồng ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 233.

1/51

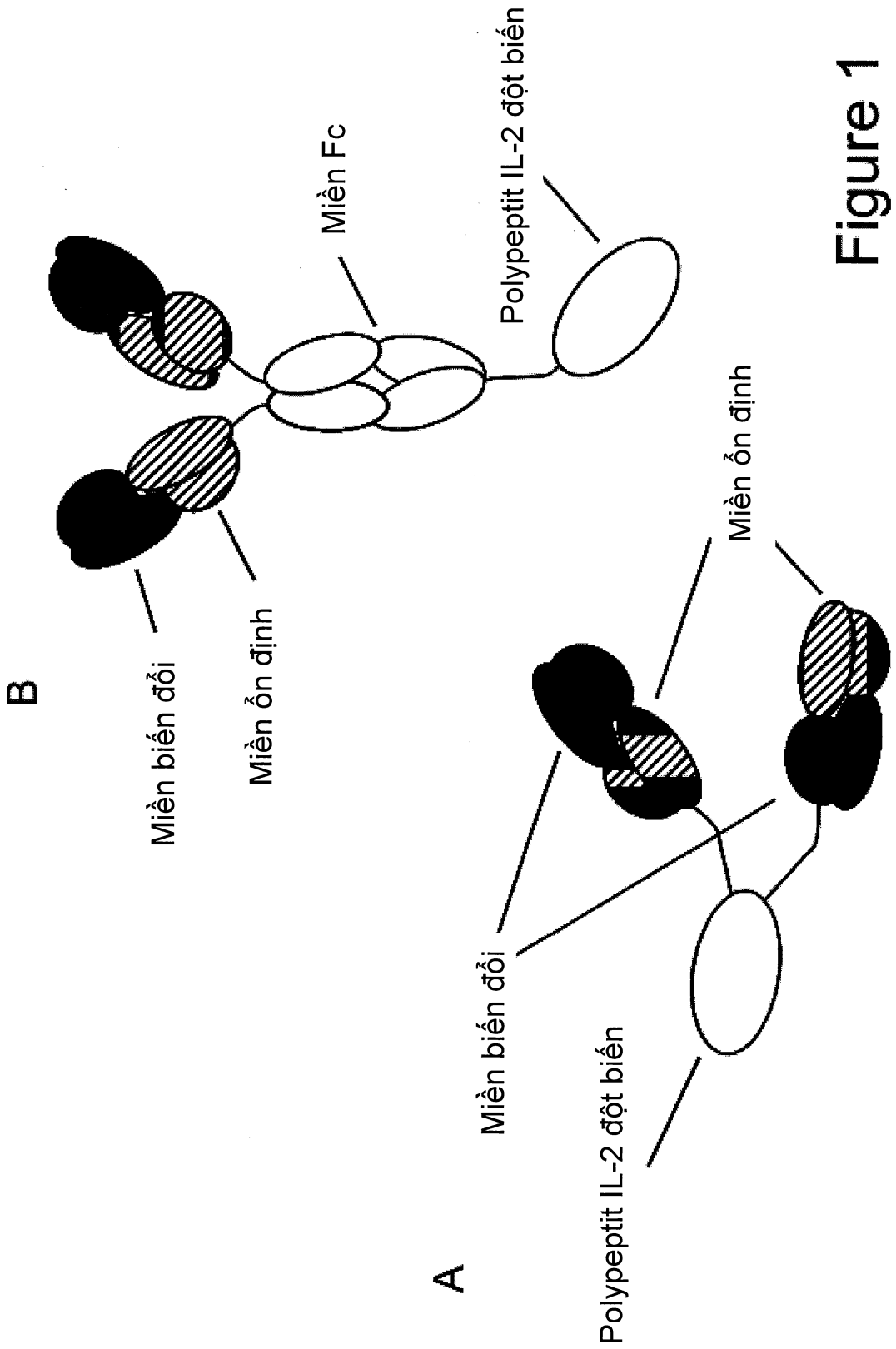
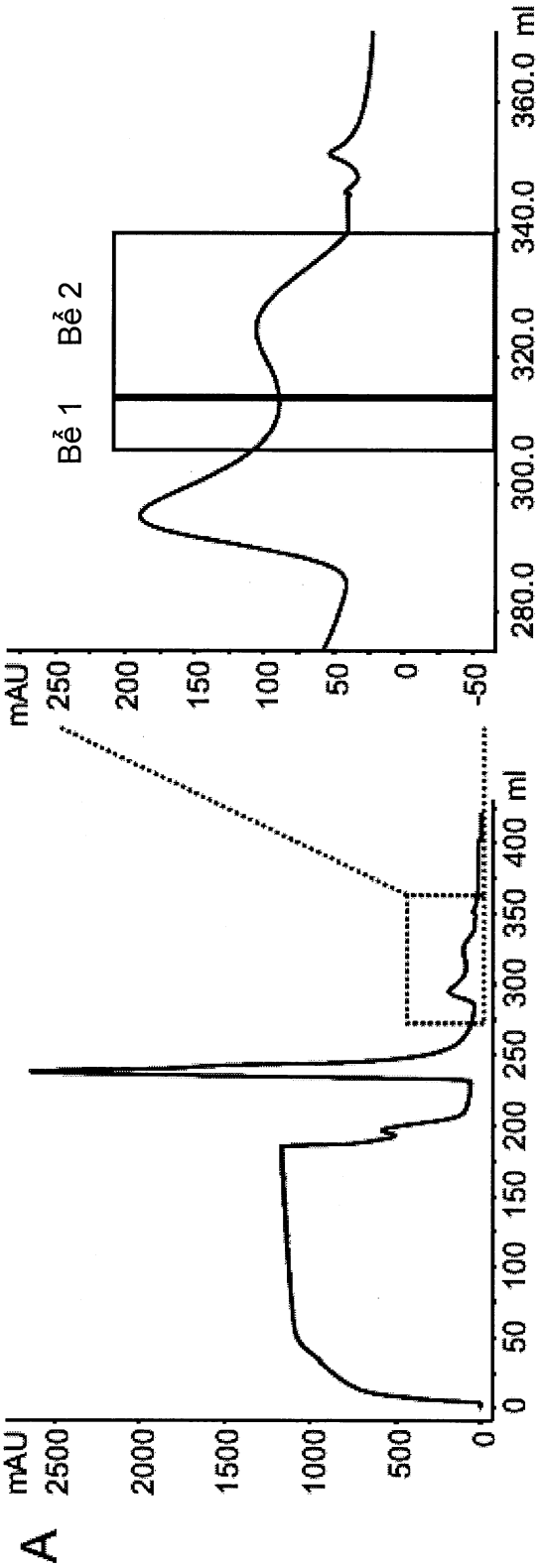

B
Miền biến đổi
Miền ổn định
Miền Fc
Polypeptit IL-2 đột biến
A
Miền biến đổi
Miền ổn định
Polypeptit IL-2 đột biến

Figure 1


A
mAU
2500
2000
1500
1000
500
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400 ml
mAU
250
200
150
100
50
0
-50
280.0
300.0
320.0
340.0
360.0 ml
Bể 1
Bể 2

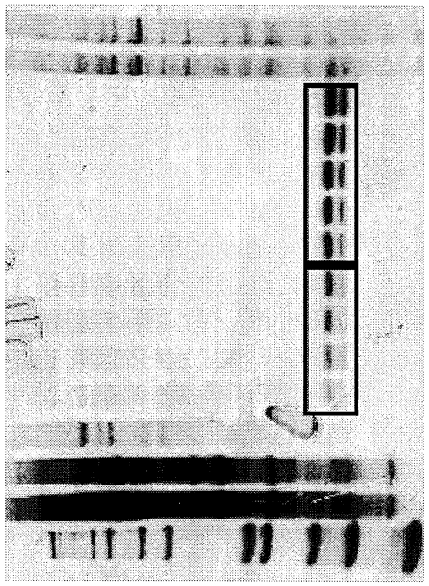

B
21.5 kD
14.4 kD
Bể 1
Bể 2

Figure 2

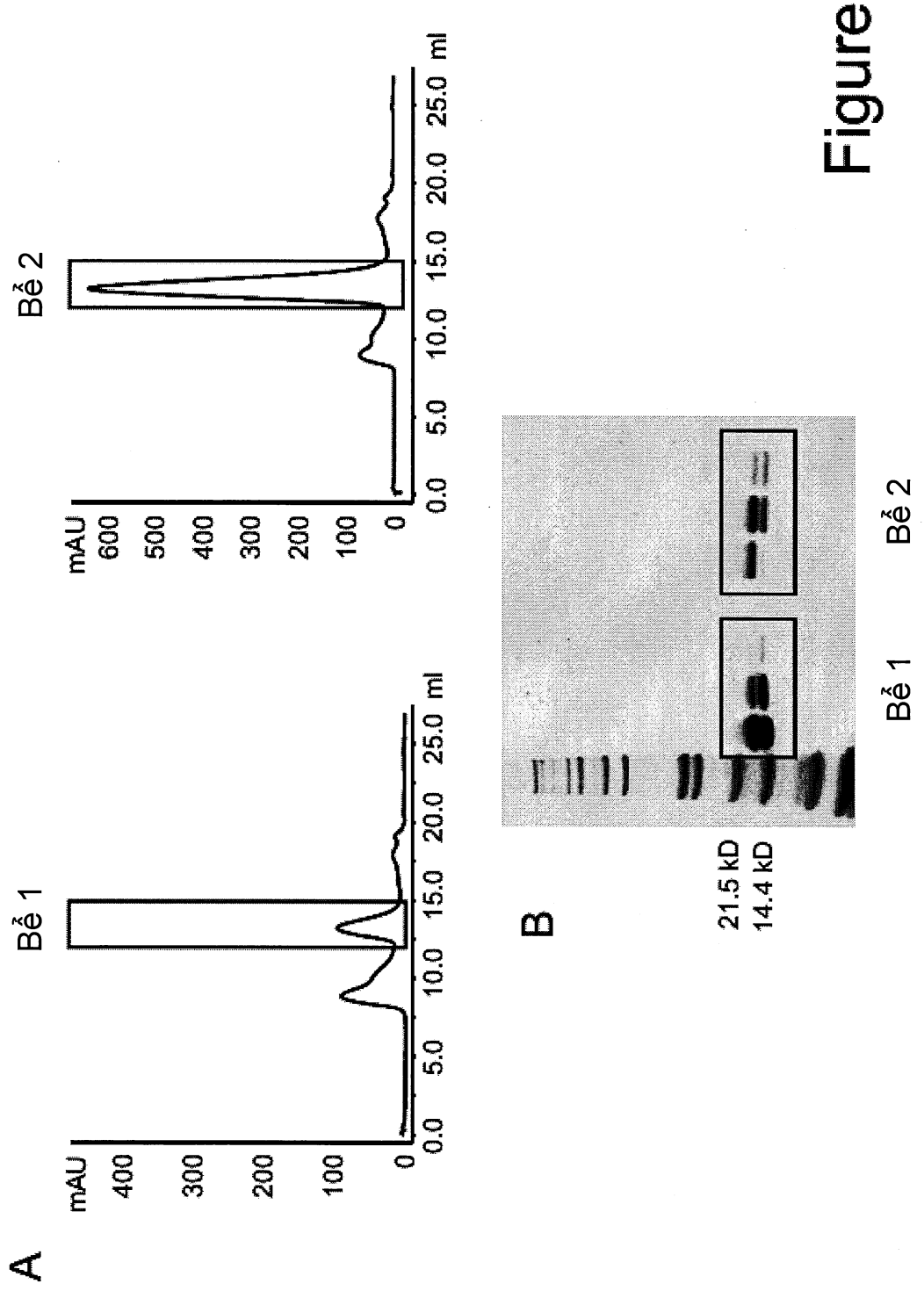

A
Bể 1
mAU
400
300
200
100
0
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0 ml
Bể 2
mAU
600
500
400
300
200
100
0
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0 ml
B
21.5 kD
14.4 kD
Bể 1
Bể 2

Figure 3

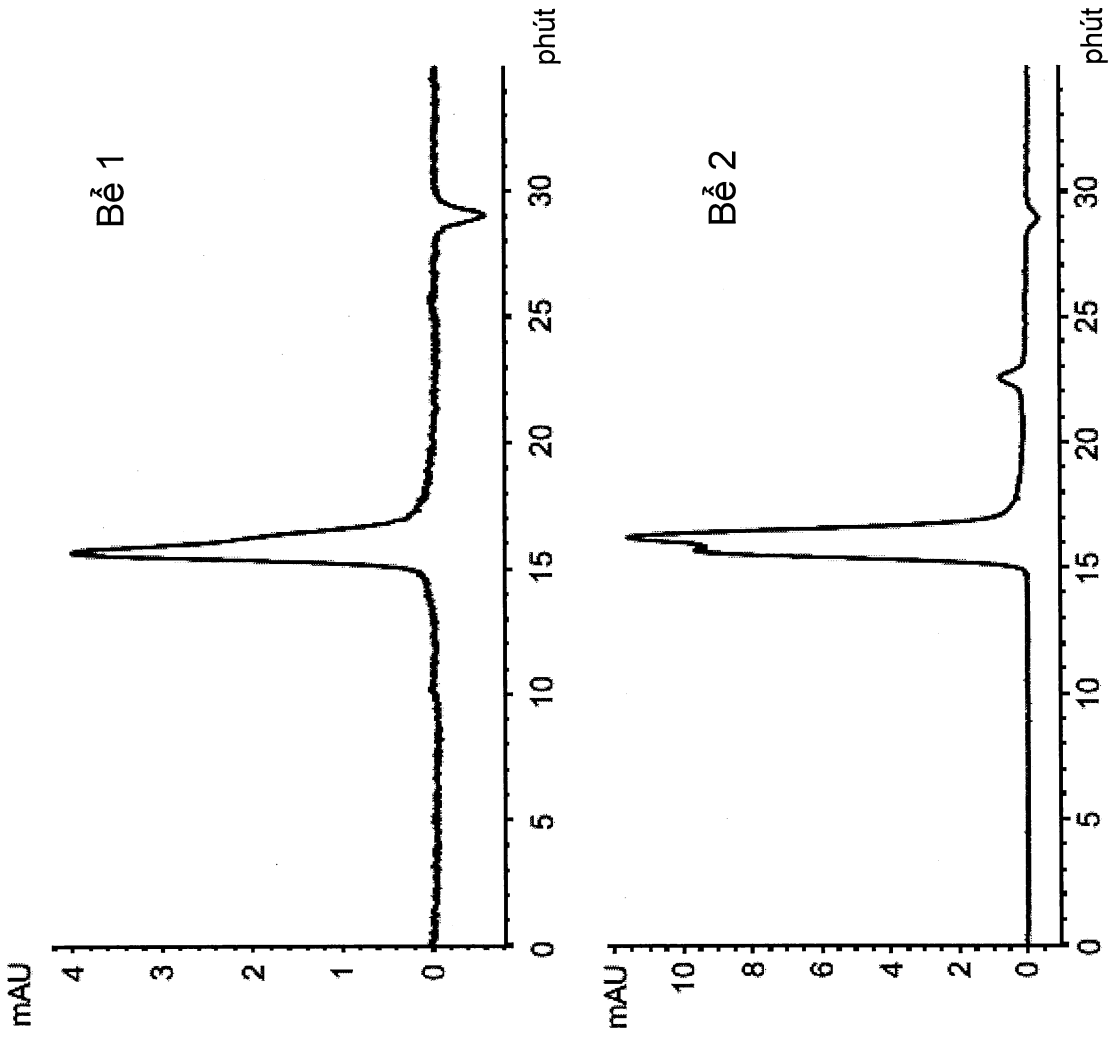
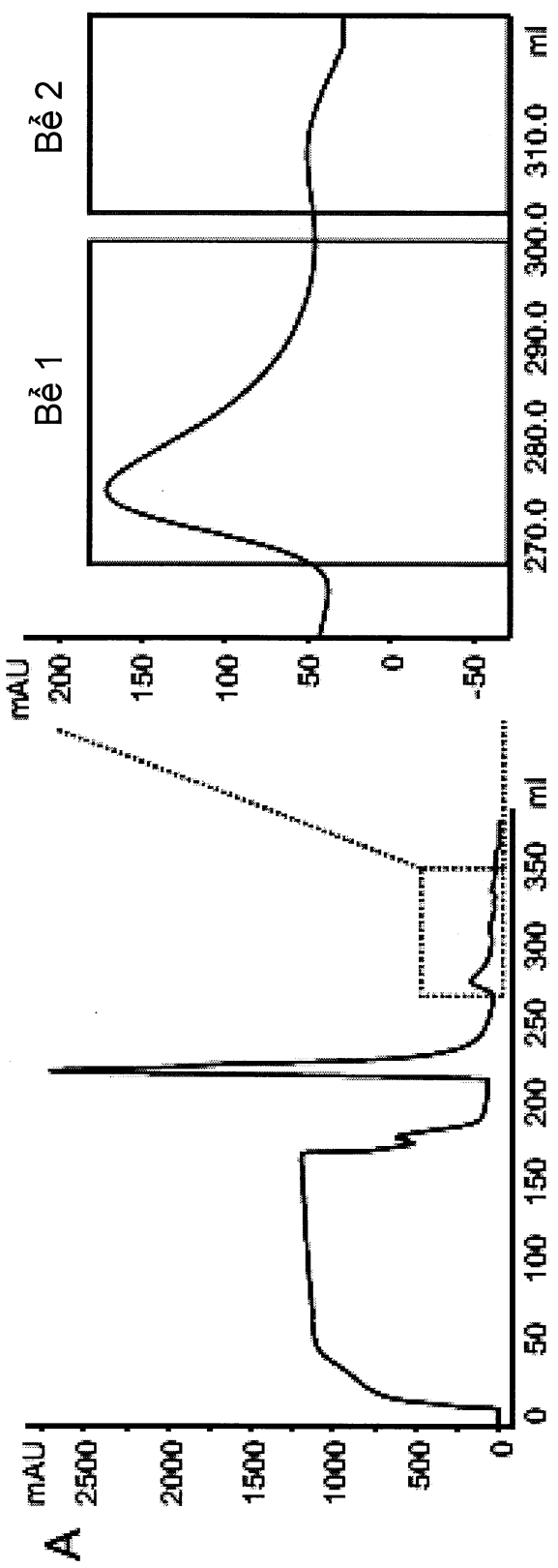

Bể 1
mAU
4
3
2
1
0
0
5
10
15
20
25
30
phút
Bể 2
mAU
10
8
6
4
2
0
0
5
10
15
20
25
30
phút

Figure 4


A
mAU
2500
2000
1500
1000
500
0
0
50
100
150
200
250
300
350
ml
Bể 1
Bể 2
mAU
200
150
100
50
0
-50
270.0
280.0
290.0
300.0
310.0
ml

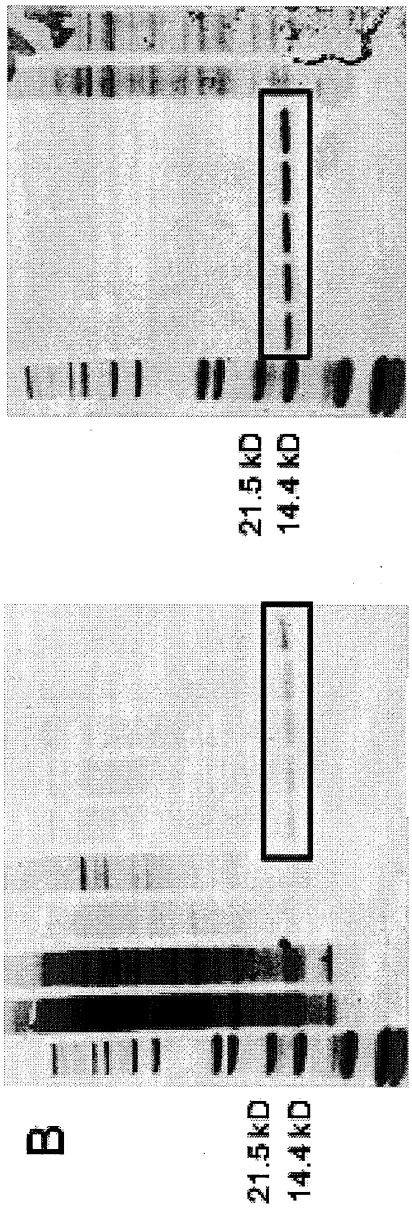

B
21.5kD
14.4kD
Bể 1
21.5 kD
14.4 kD
Bể 2

Figure 5

6/51

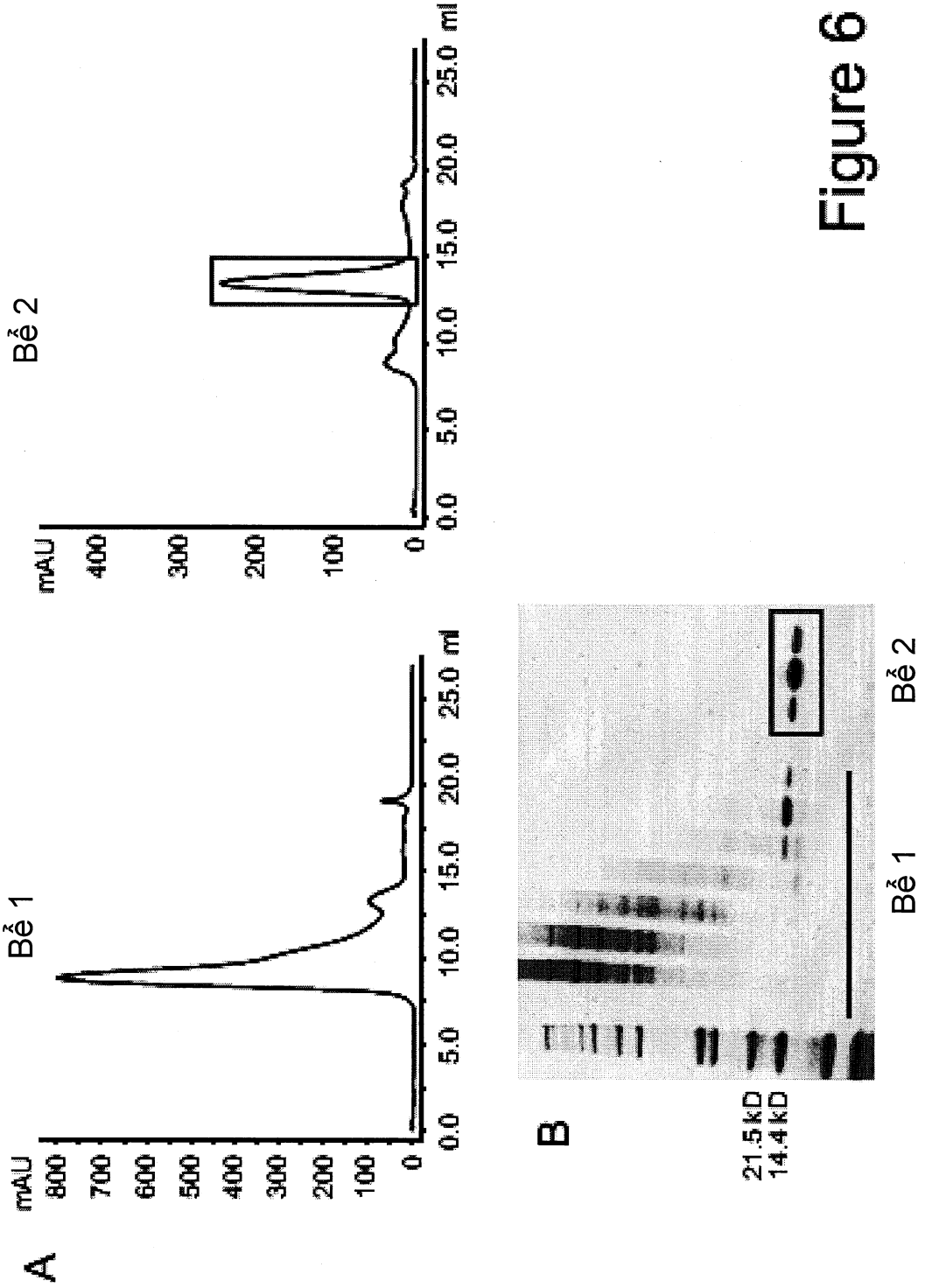
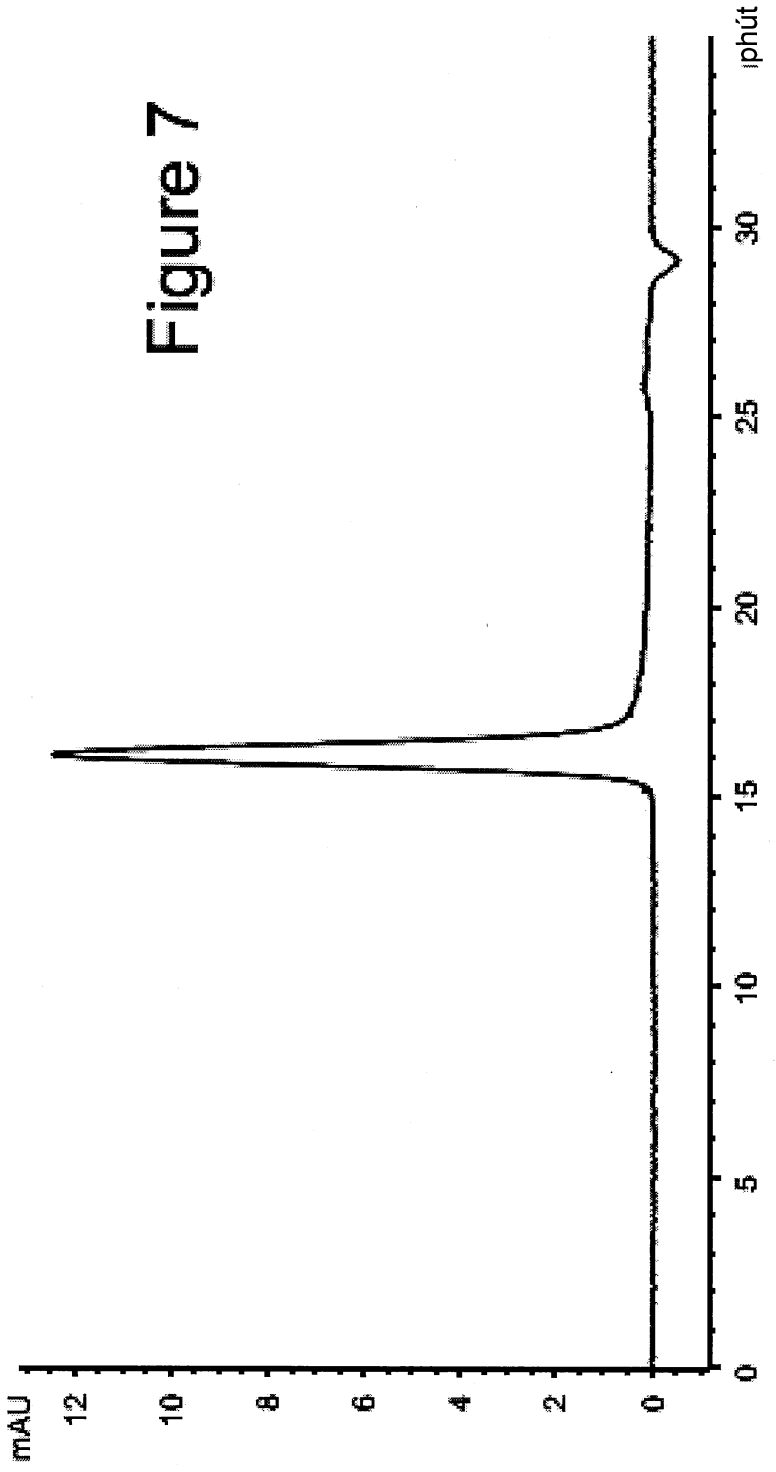

A
mAU
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0 ml
Bể 1
mAU
400
300
200
100
0
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0 ml
Bể 2
B
21.5 kD
14.4 kD
Bể 1
Bể 2

Figure 6

7/51

Figure 7



8/51

Figure 8

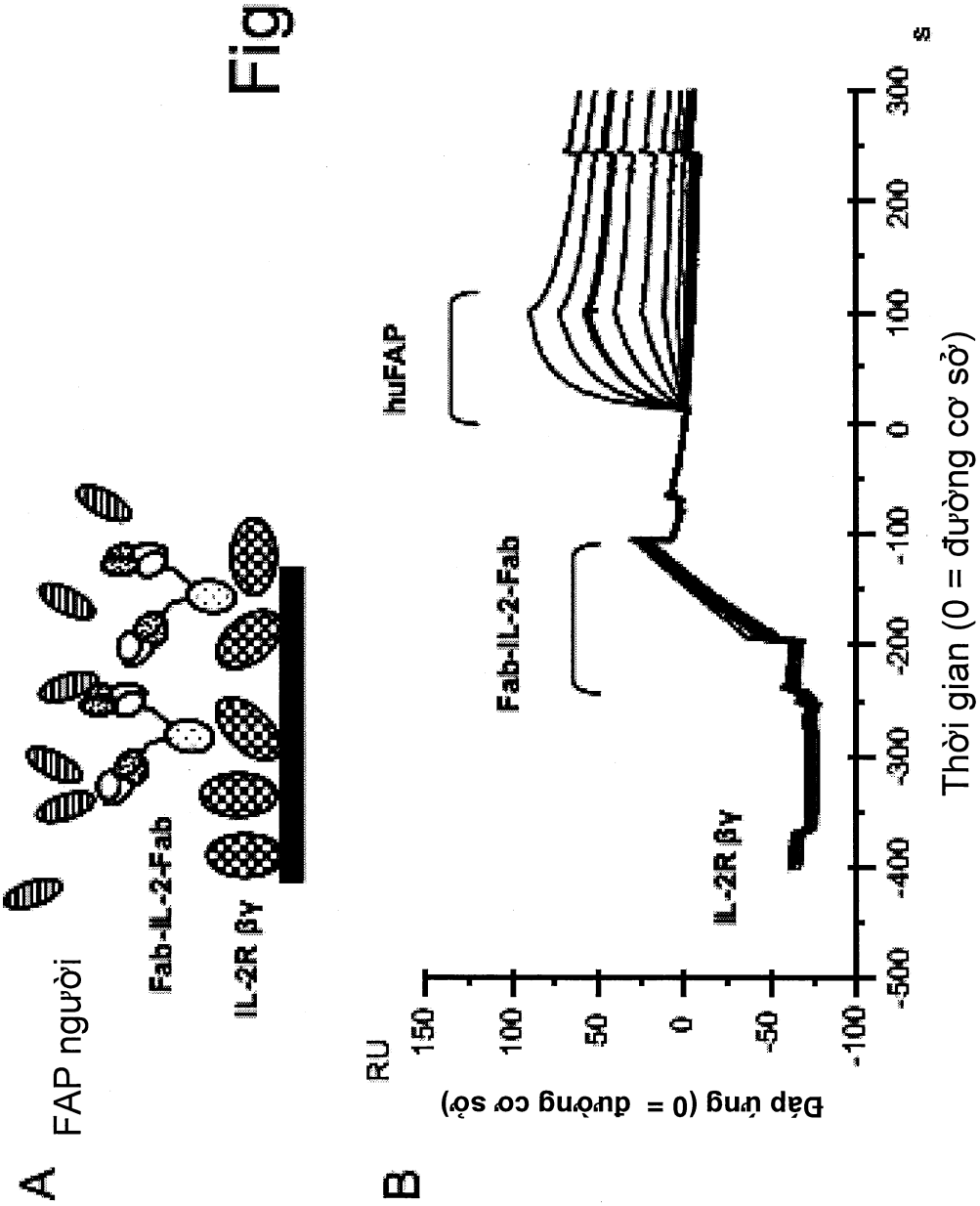

A
FAP người
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ
B
huFAP
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ
RU
150
100
50
0
-50
-100
-500
-400
-300
-200
-100
0
100
200
300
s
Đáp ứng (0 = đường cơ sở)
Thời gian (0 = đường cơ sở)

Figure 9

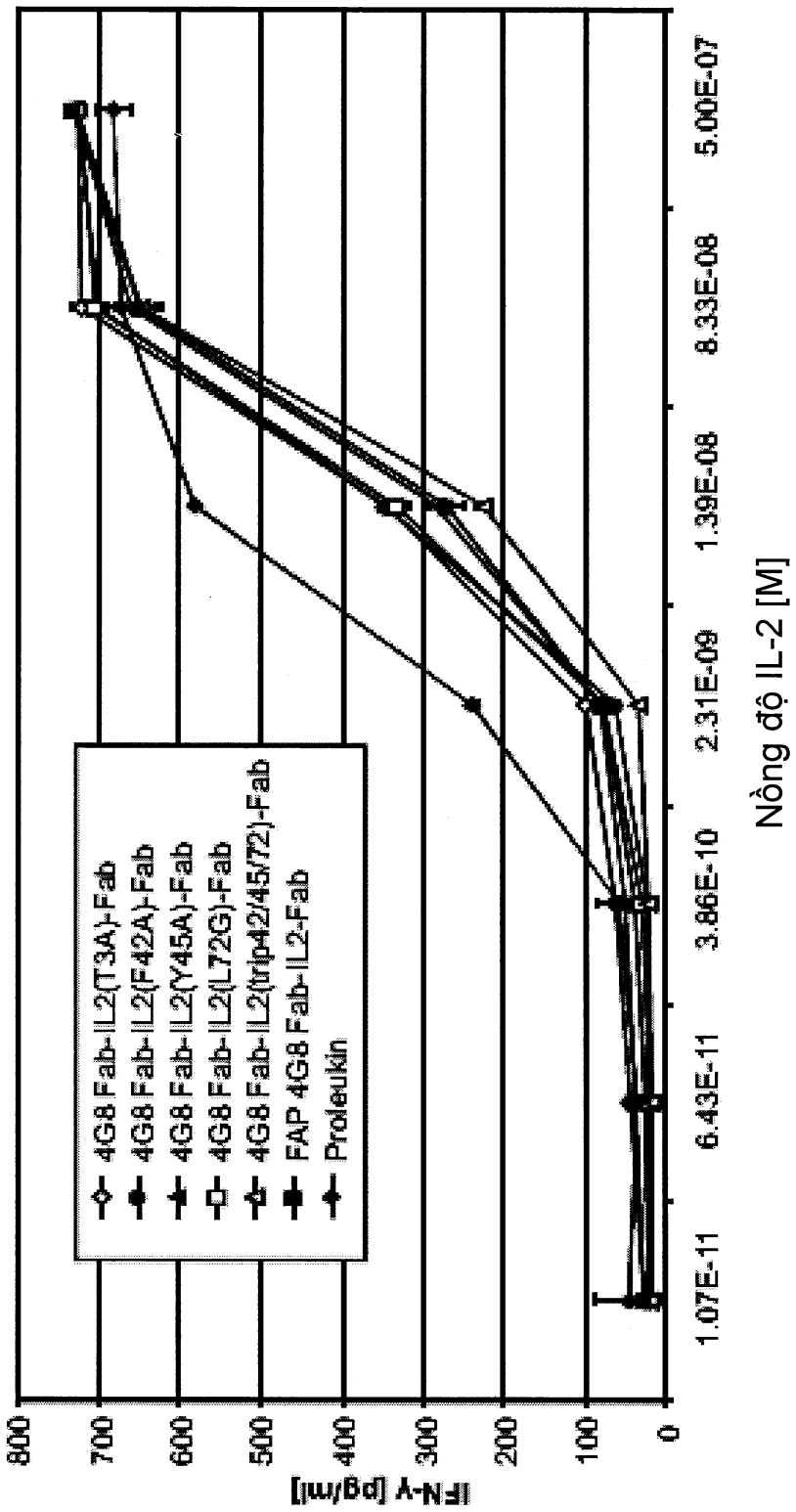
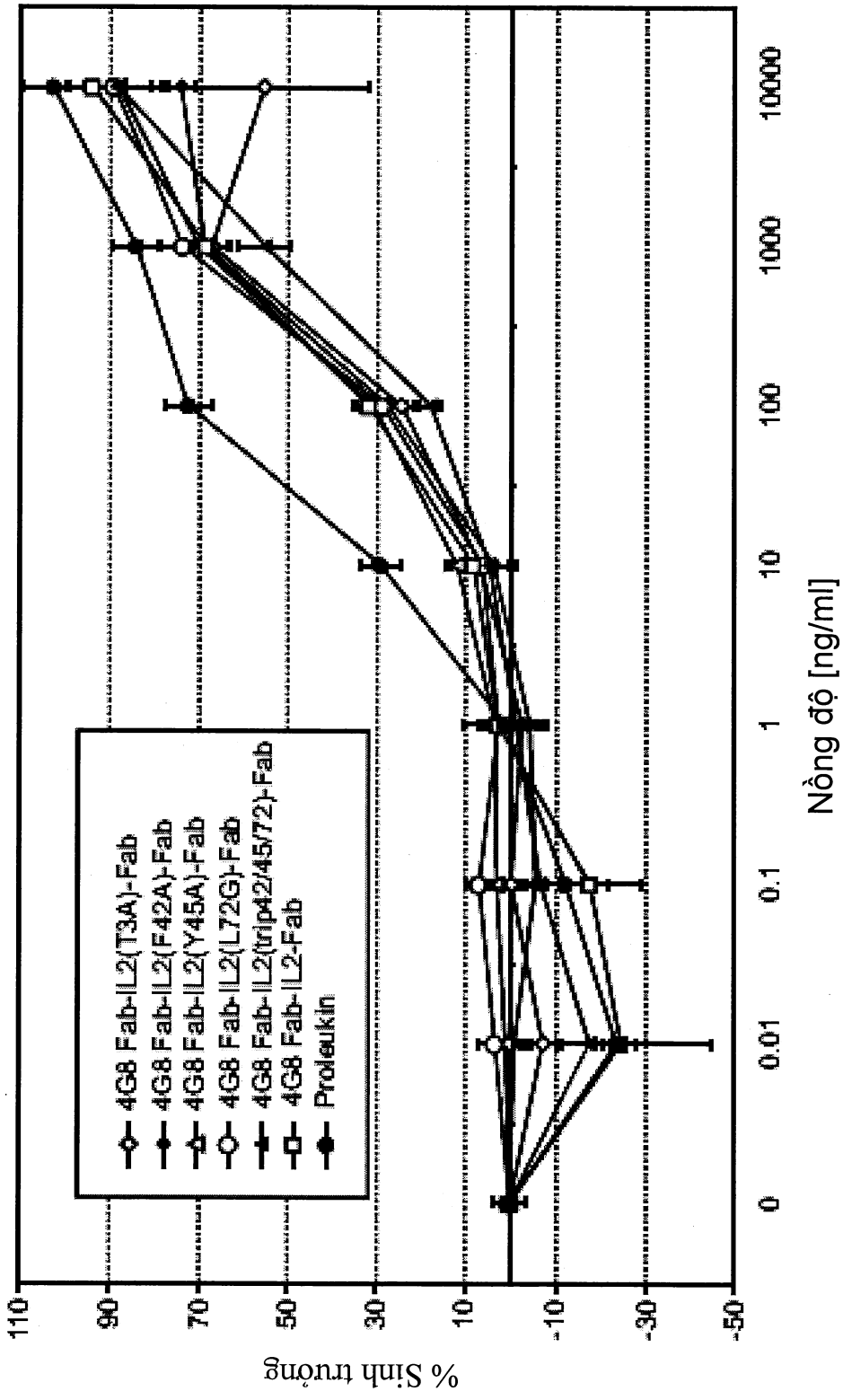
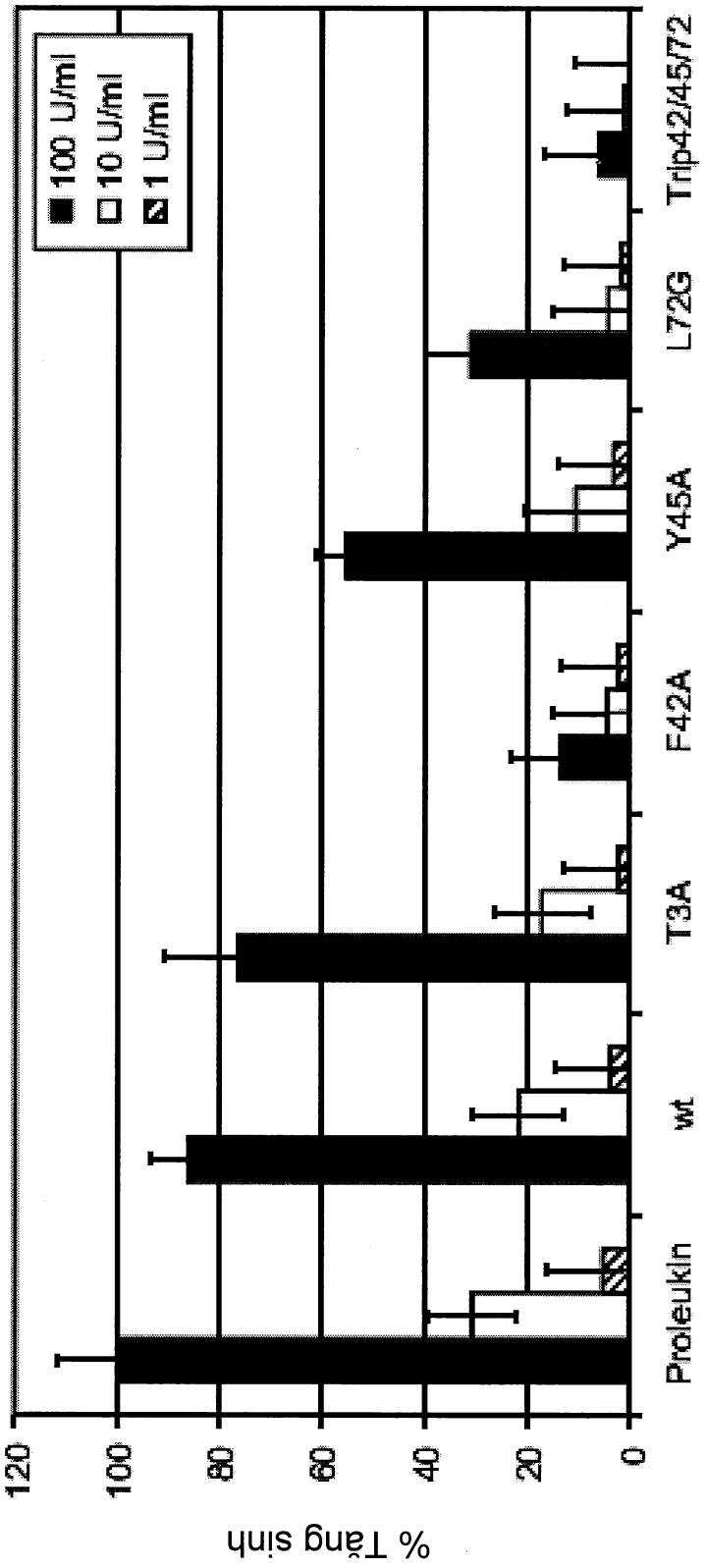

IFN-γ [pg/ml]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
1.07E-11
6.43E-11
3.86E-10
2.31E-09
1.39E-08
8.33E-08
5.00E-07
Nồng độ IL-2 [M]
4G8 Fab-IL2(T3A)-Fab
4G8 Fab-IL2(F42A)-Fab
4G8 Fab-IL2(Y45A)-Fab
4G8 Fab-IL2(L72G)-Fab
4G8 Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab
FAP 4G8 Fab-IL2-Fab
Proleukin

Figure 10


% Sinh trưởng
110
90
70
50
30
10
-10
-30
-50
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
Nồng độ [ng/ml]
4G8 Fab-IL2(T3A)-Fab
4G8 Fab-IL2(F42A)-Fab
4G8 Fab-IL2(Y45A)-Fab
4G8 Fab-IL2(L72G)-Fab
4G8 Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab
4G8 Fab-IL2-Fab
Proleukin

11/51

Figure 11



12/51

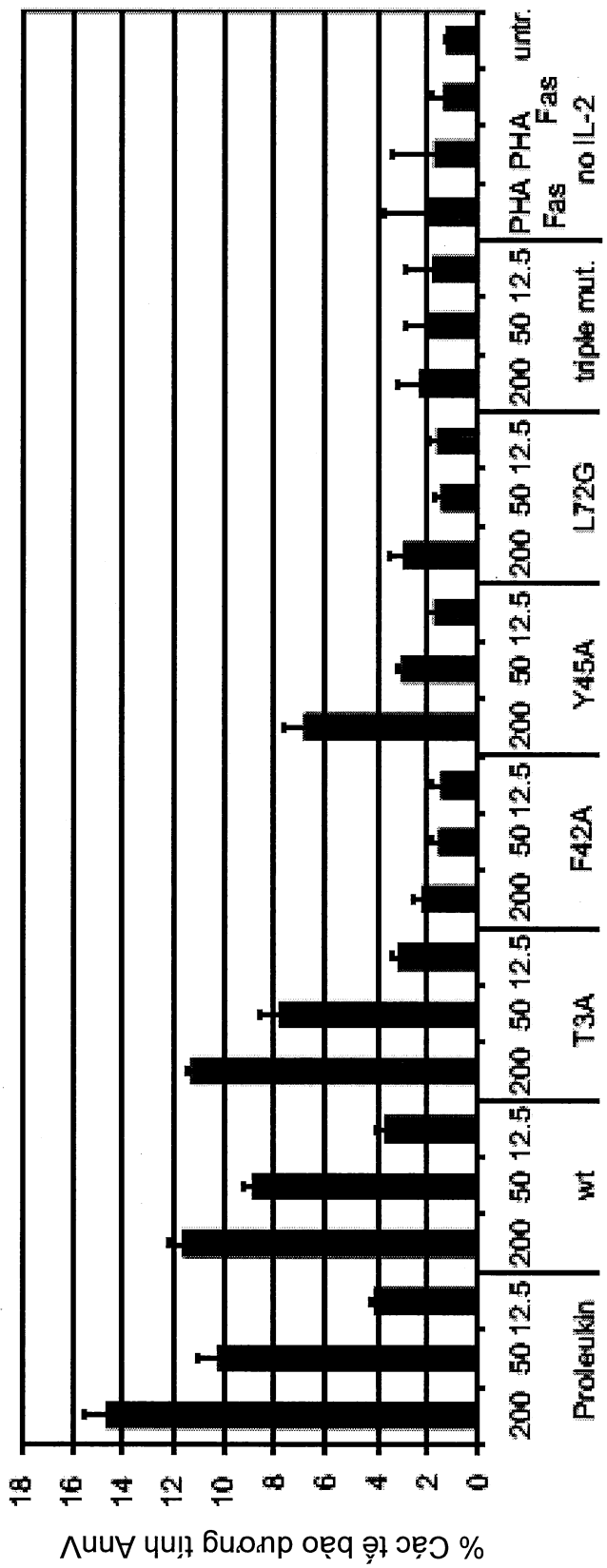
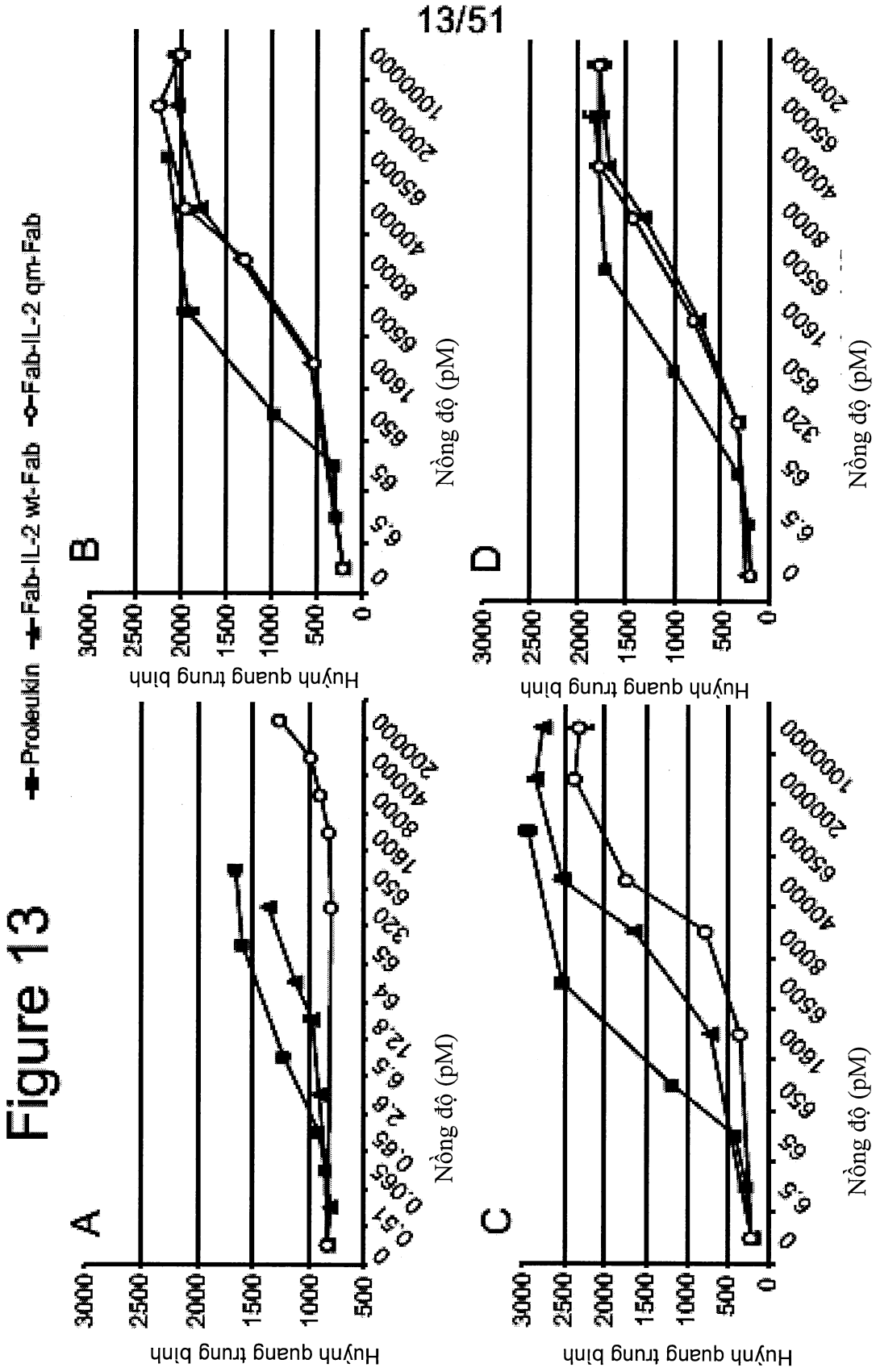


Figure 12

Figure 13


Proleukin
Fab-IL-2 wt-Fab
Fab-IL-2 qm-Fab
A
B
C
D
Huỳnh quang trung bình
Nồng độ (pM)

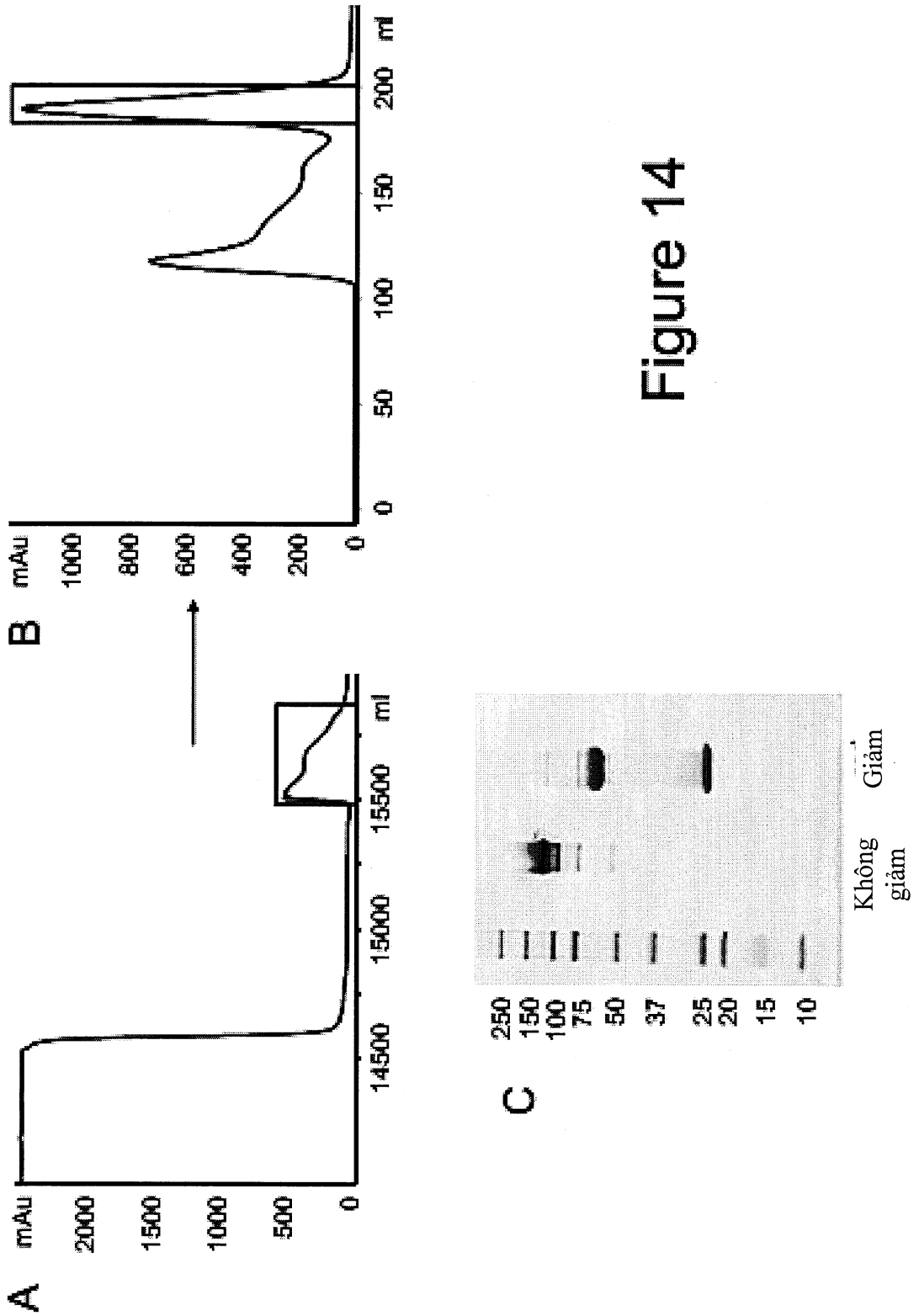

A
mAu
2000
1500
1000
500
0
14500
15000
15500
ml
B
mAu
1000
800
600
400
200
0
0
50
100
150
200
ml
C
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
Không giảm
Giảm

Figure 14

15/51

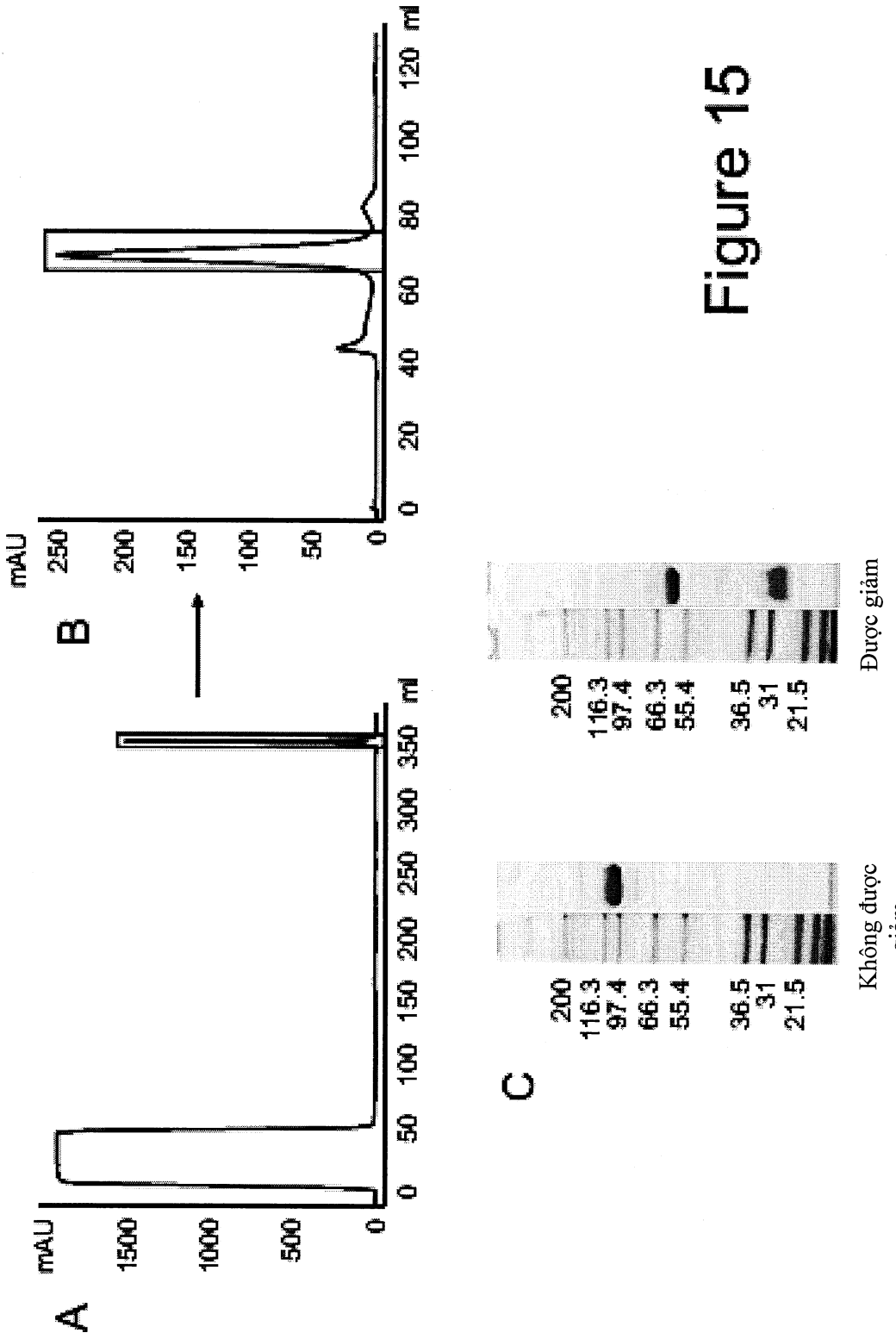


Figure 15

16/51

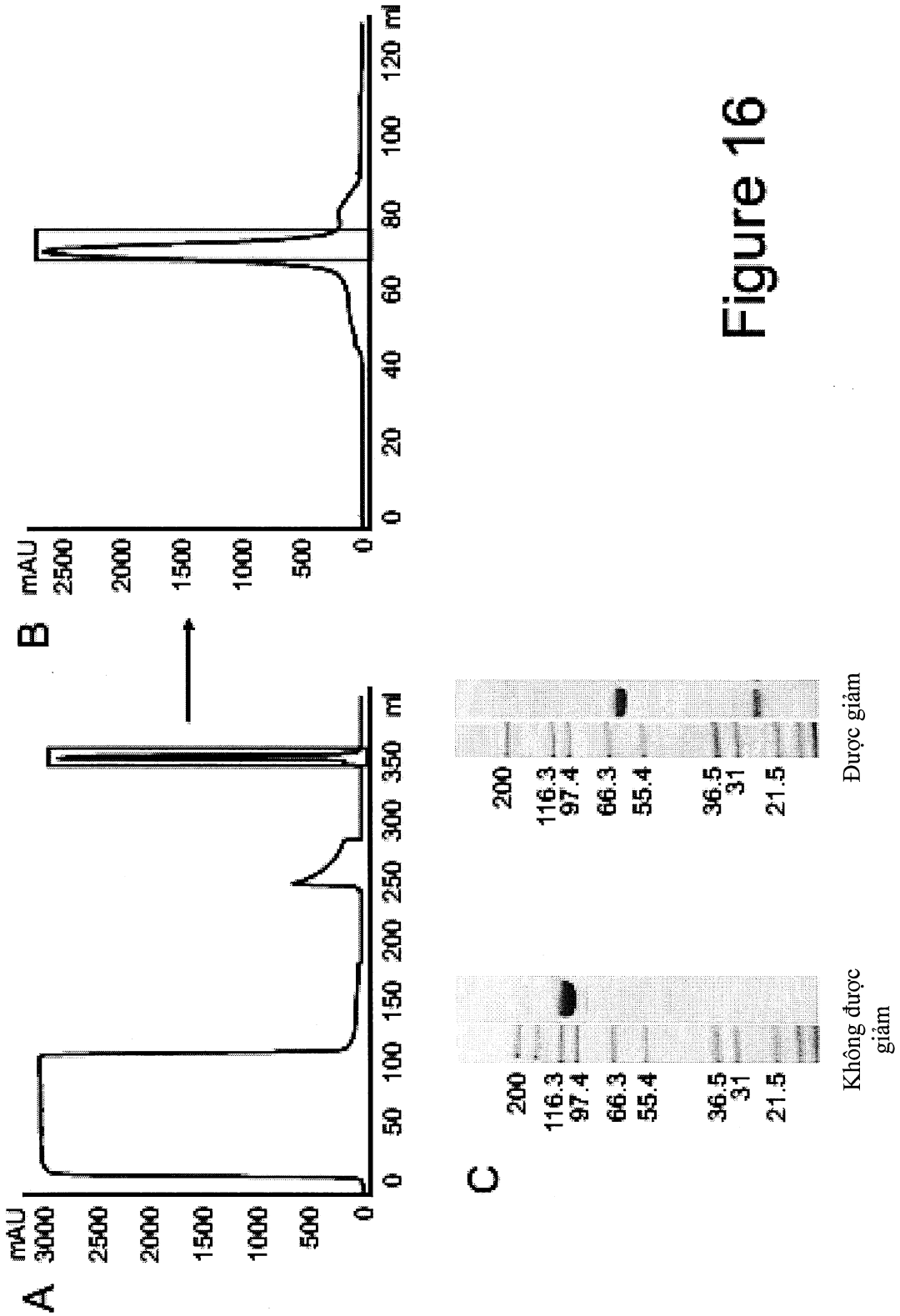


Figure 16

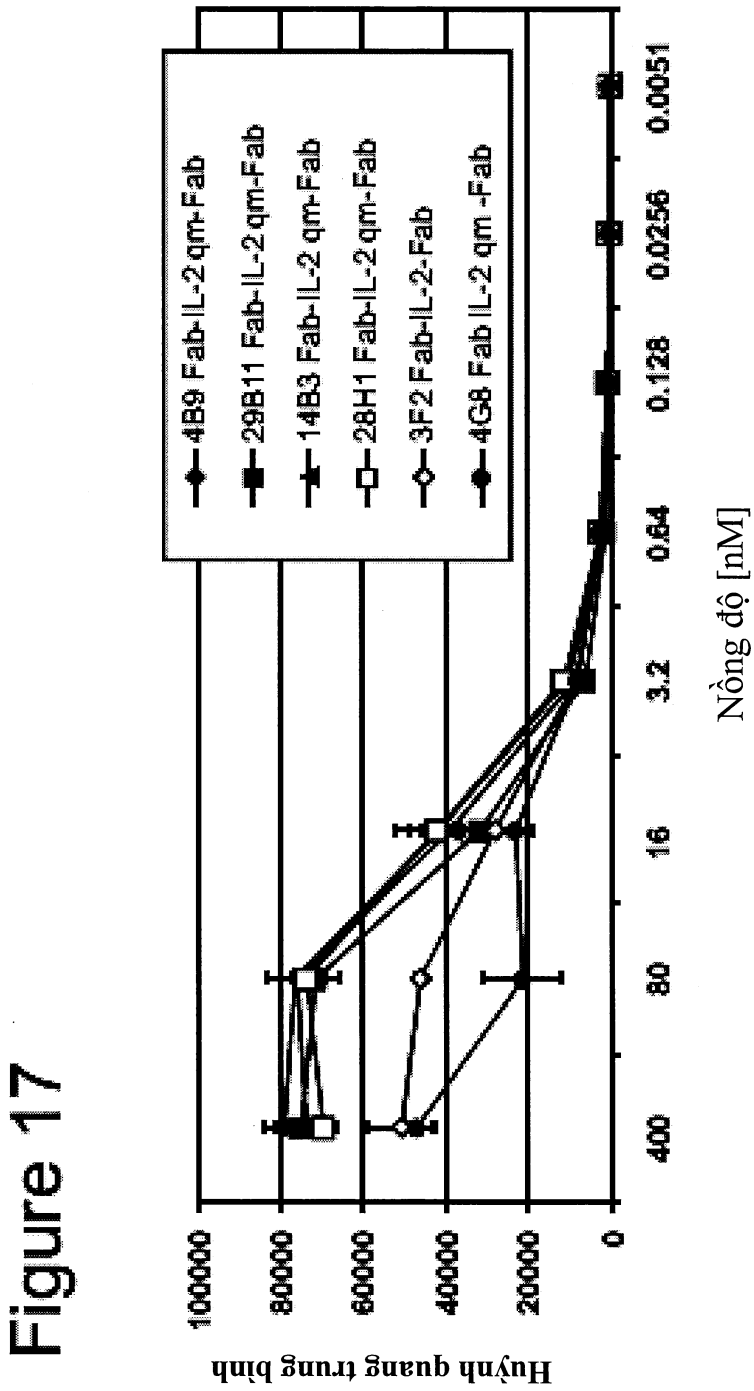
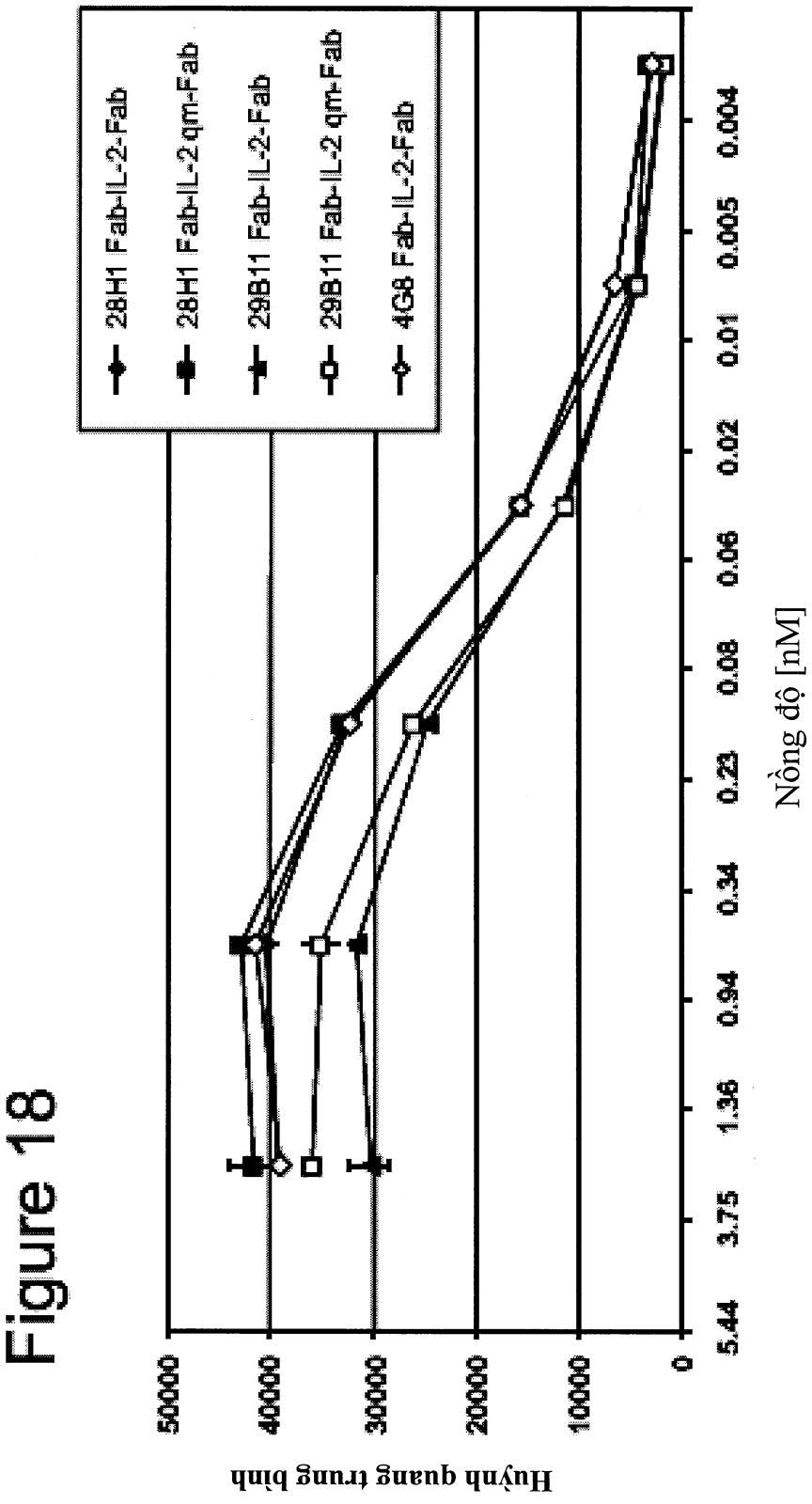

4B9 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
14B3 Fab-IL-2 qm-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
3F2 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab IL-2 qm -Fab
Huỳnh quang trung bình
100000
80000
60000
40000
20000
0
400
80
16
3.2
0.64
0.128
0.0256
0.0051
Nồng độ [nM]

Figure 17

18/51

Figure 18



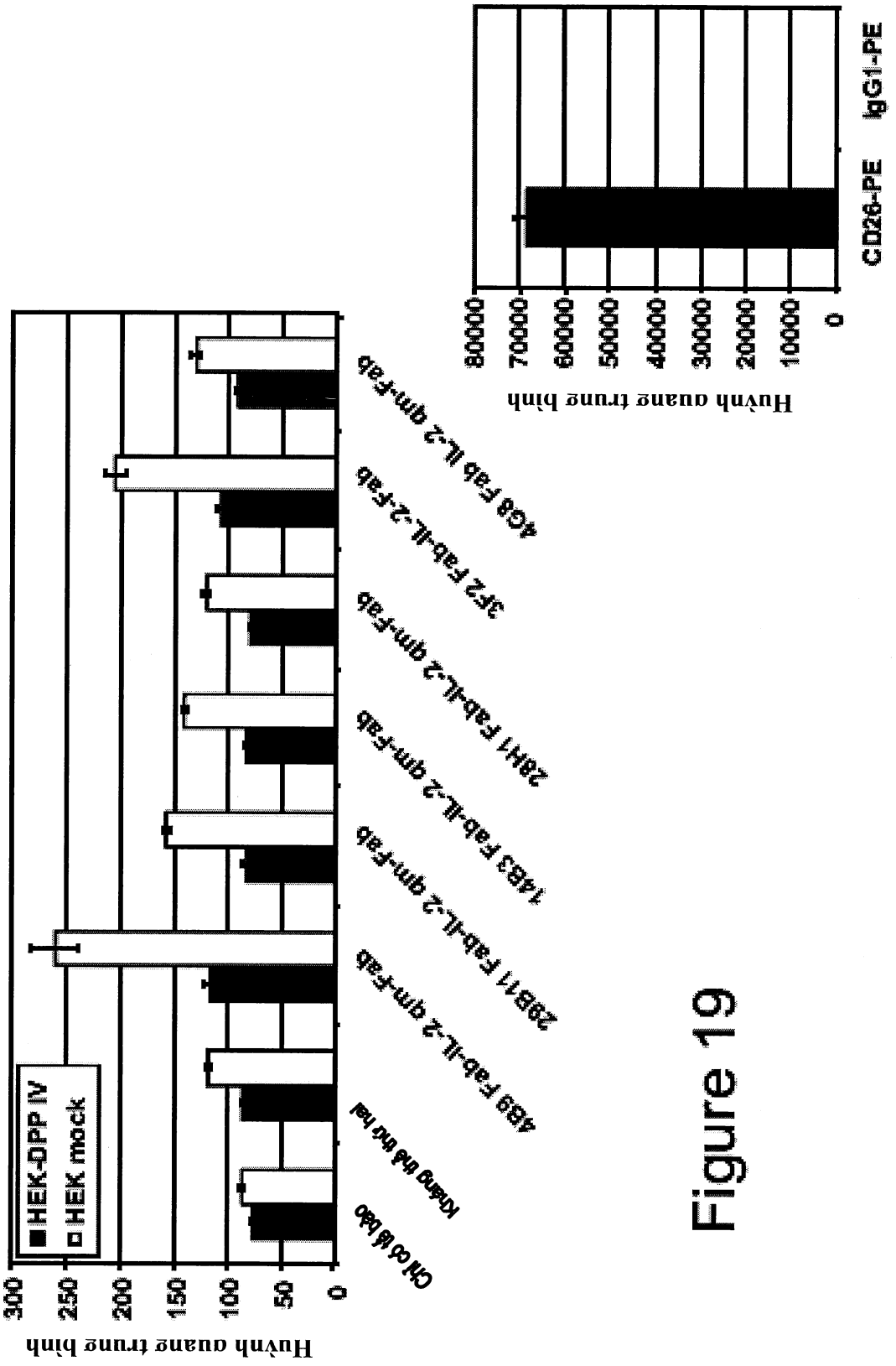
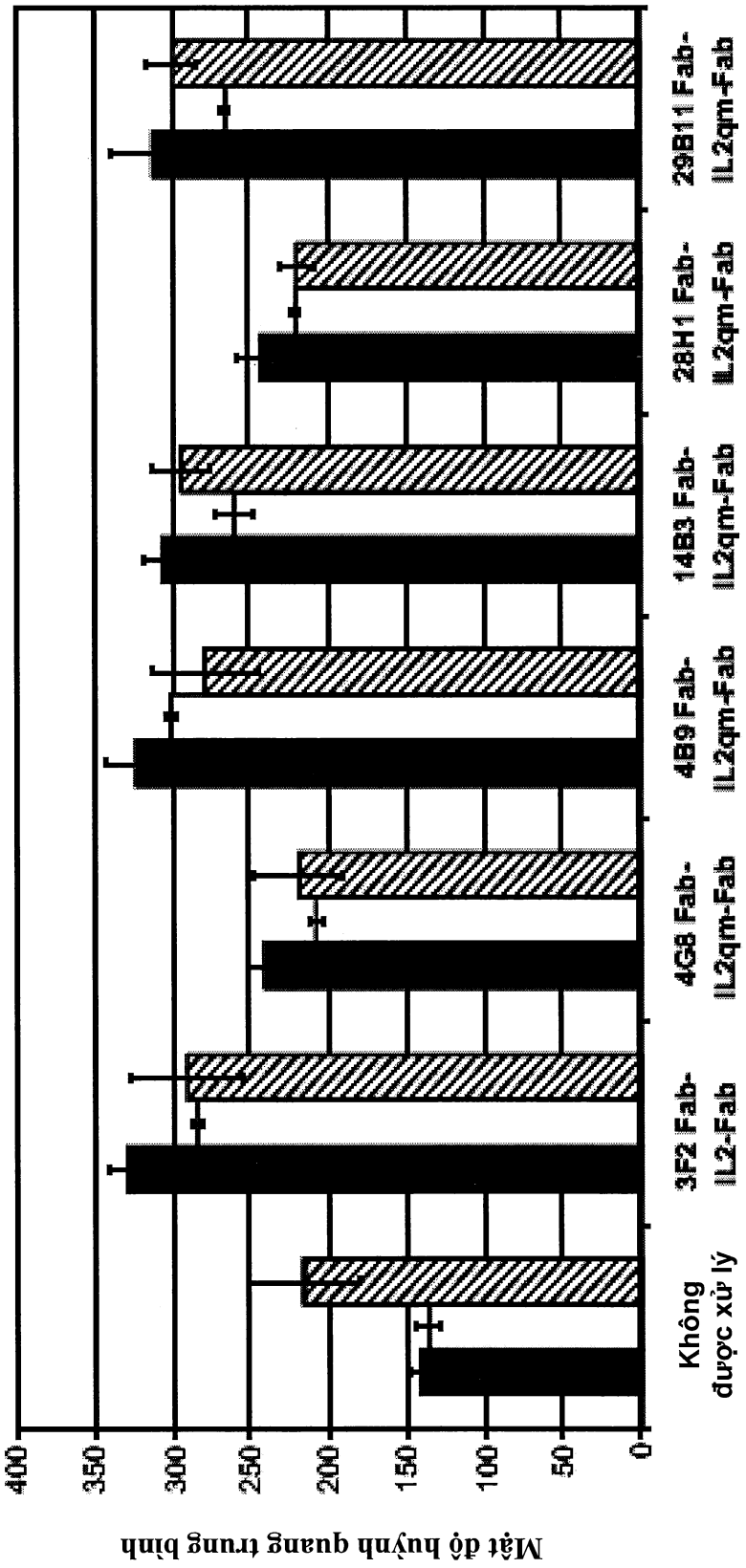

HEK-DPP IV
HEK mock
Huvnh quang trung binh
300
250
200
150
100
50
0
Chứng âm tính
Không âm tính
4B3 Fab-IL-2 qpn-Fab
29B11 Fab-IL-2 qpn-Fab
14B3 Fab-IL-2 qpn-Fab
28H1 Fab-IL-2 qpn-Fab
3F2 Fab-IL-2-Fab
4G3 Fab IL-2 qpn-Fab
Huỳnh quang trung bình
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
CD26-PE
IgG1-PE

Figure 19

Figure 20


45 phút 4°C
45 phút 4°C + 30 phút 37°C
45 phút 4°C + 6 giờ 37°C
Mật độ huỳnh quang trung bình
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Không được xử lý
3F2 Fab-IL2-Fab
4G8 Fab-IL2qm-Fab
4B9 Fab-IL2qm-Fab
14B3 Fab-IL2qm-Fab
28H1 Fab-IL2qm-Fab
29B11 Fab-IL2qm-Fab

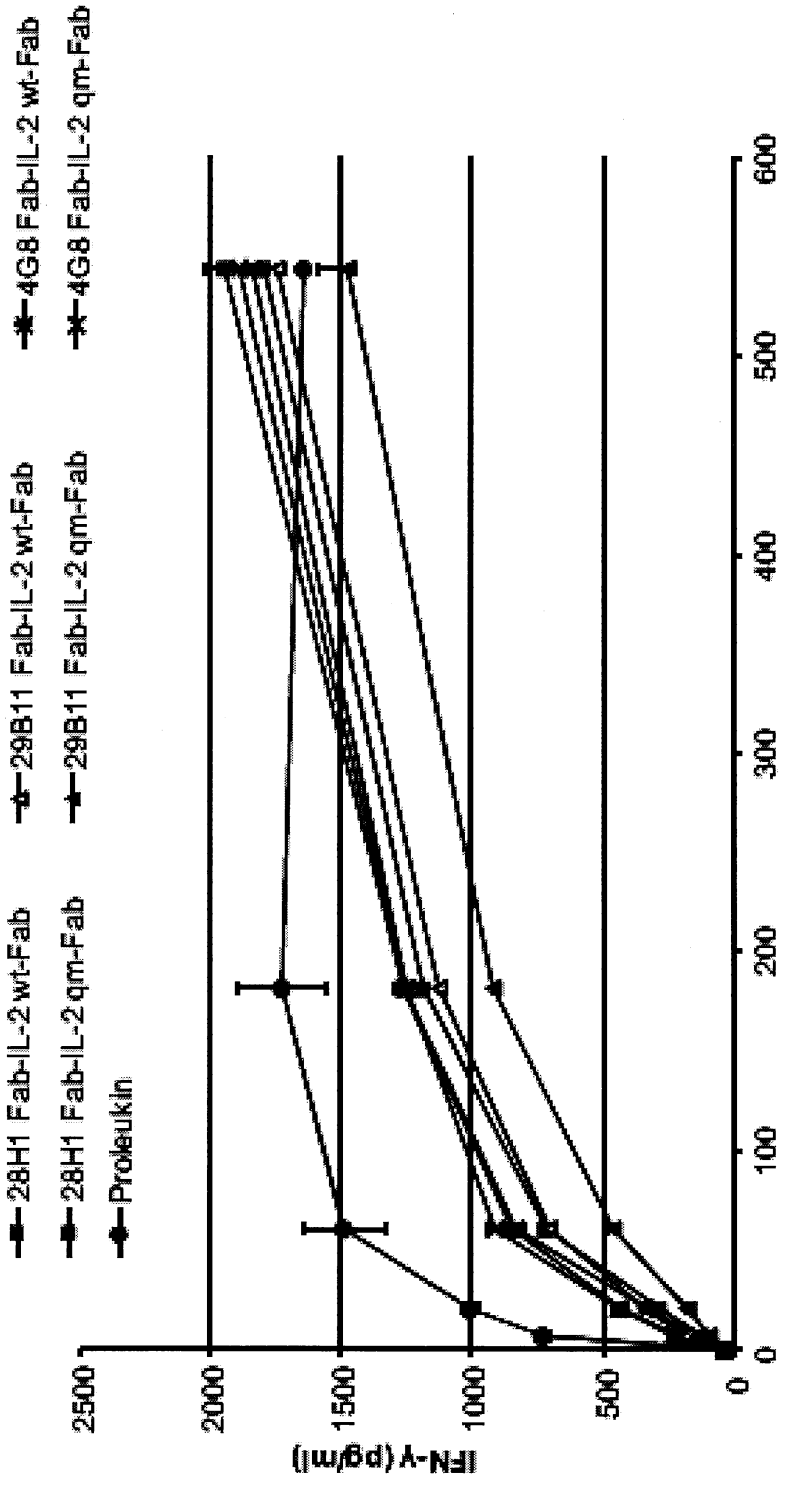
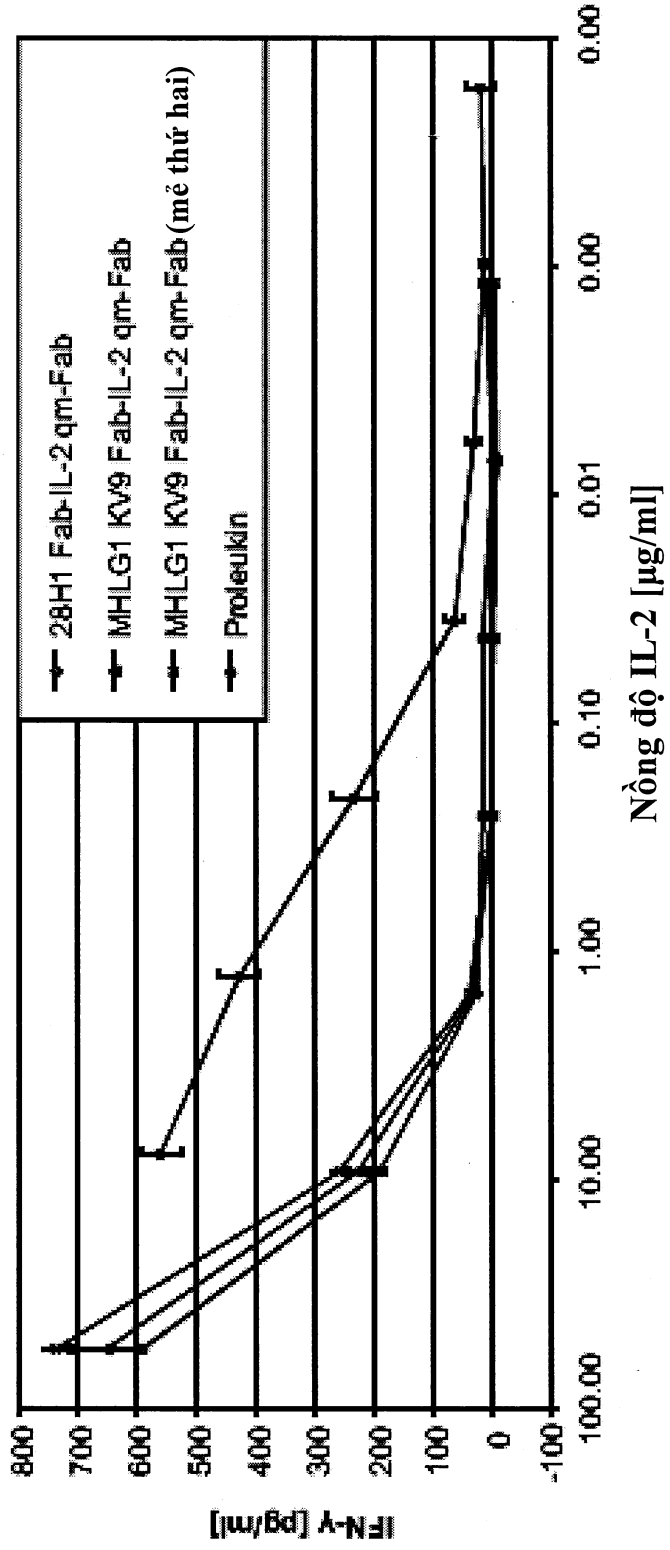

28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
Proleukin
29B11 Fab-IL-2 wt-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
IFN-γ (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
100
200
300
400
500
600
Nồng độ [nM]

Figure 21

Figure 22


28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab
MHLG1 KV9 Fab-IL-2 qm-Fab (mẻ thứ hai)
Proleukin
IFN-γ [pg/ml]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0.00
0.00
Nồng độ IL-2 [µg/ml]

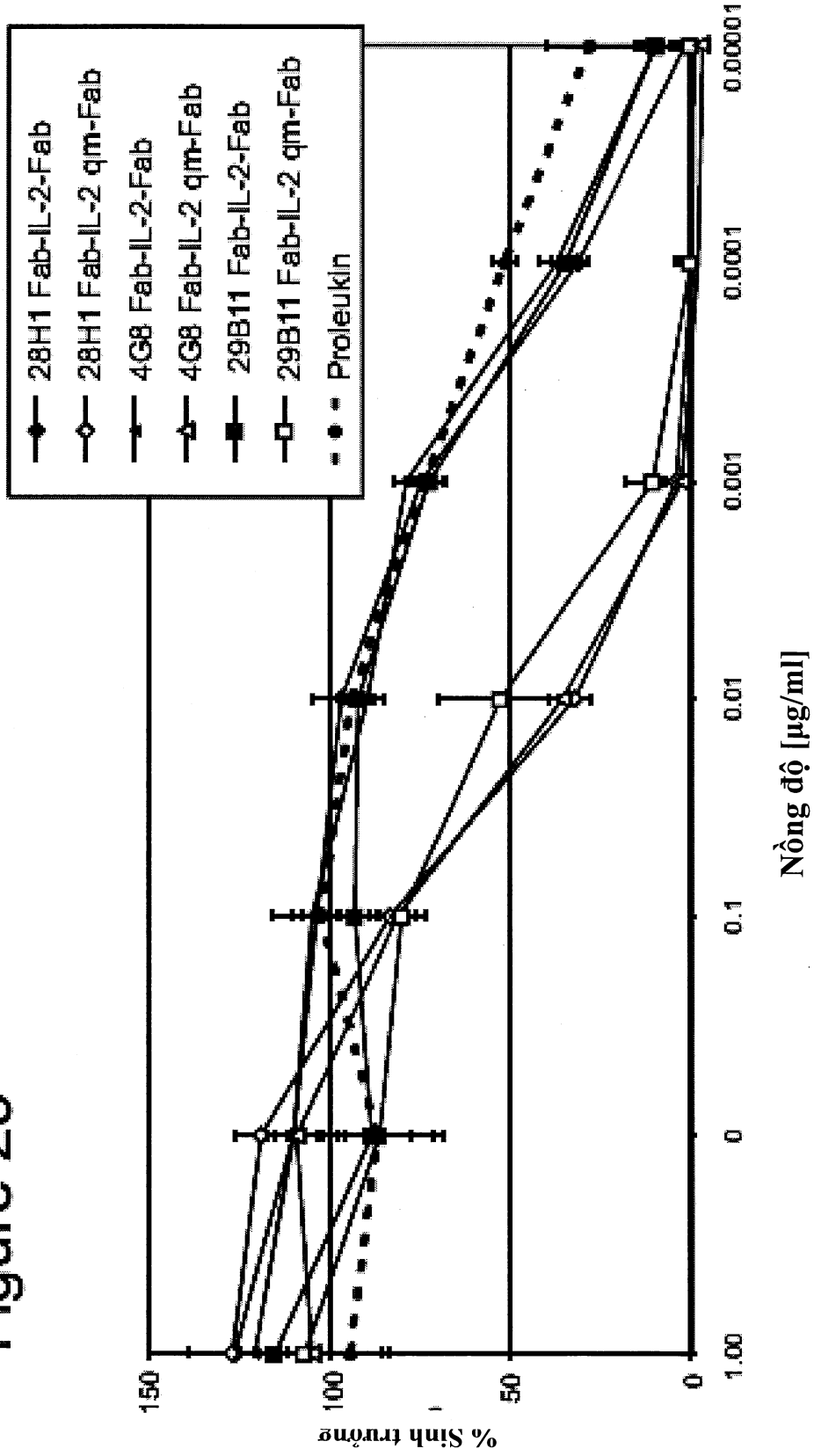

28H1 Fab-IL-2-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
29B11 Fab-IL-2-Fab
29B11 Fab-IL-2 qm-Fab
Proleukin
% Sinh trưởng
150
100
50
0
1.00
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
Nồng độ [µg/ml]

Figure 23

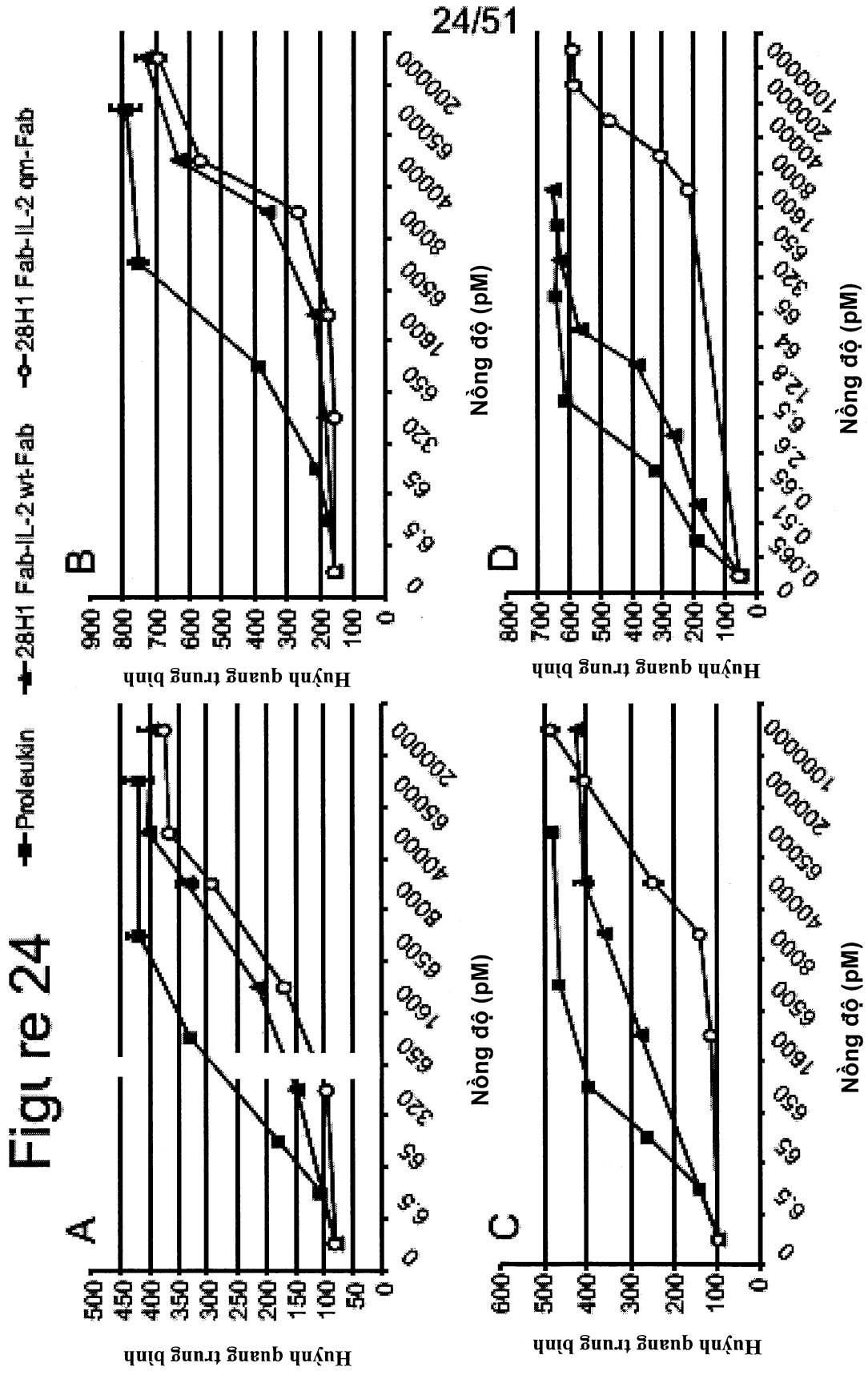
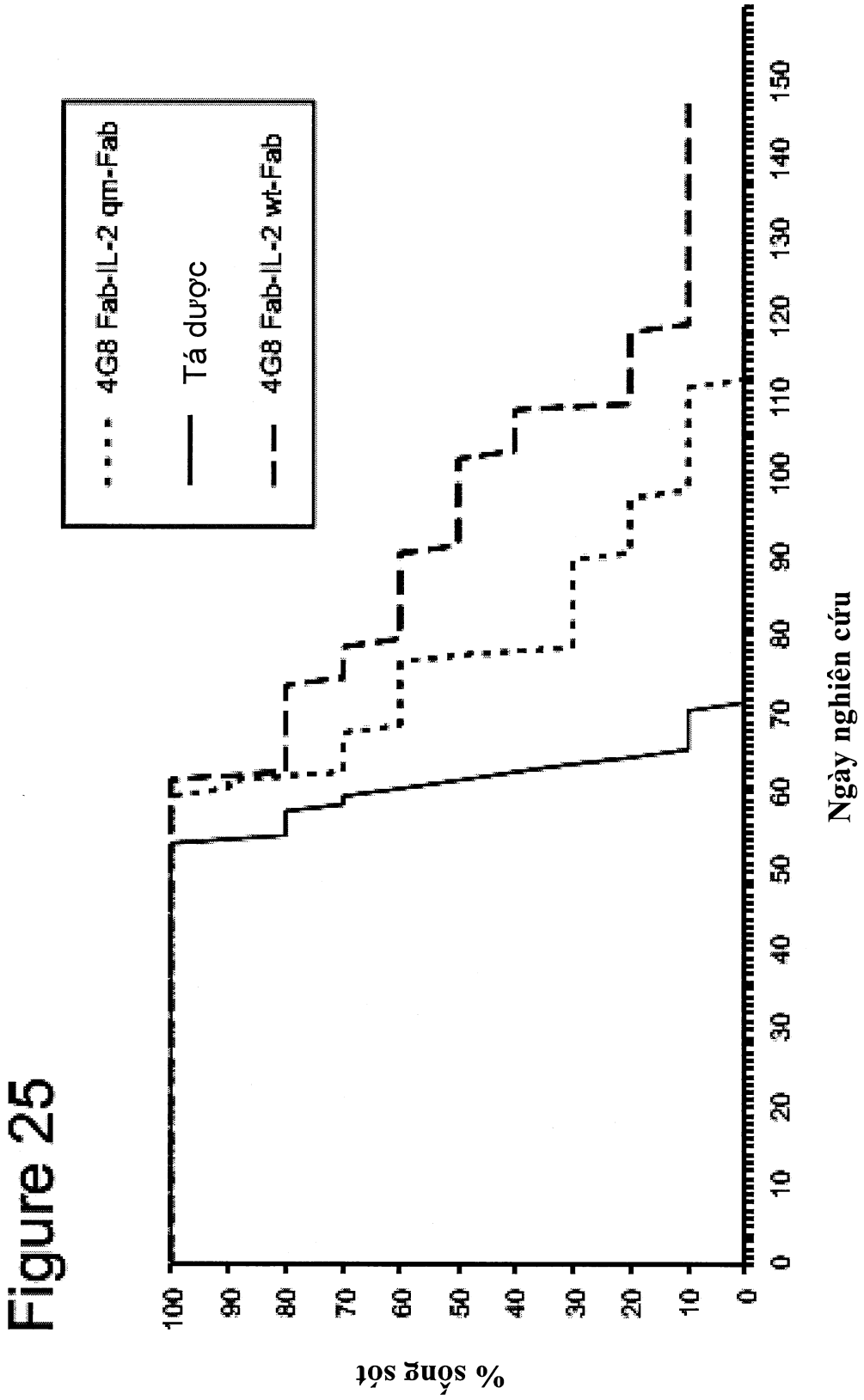

Proleukin
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
A
B
C
D
Huỳnh quang trung bình
Nồng độ (pM)

Figure 24

Figure 25


4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
Tá dược
4G8 Fab-IL-2 wt-Fab
% sống sót
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
Ngày nghiên cứu

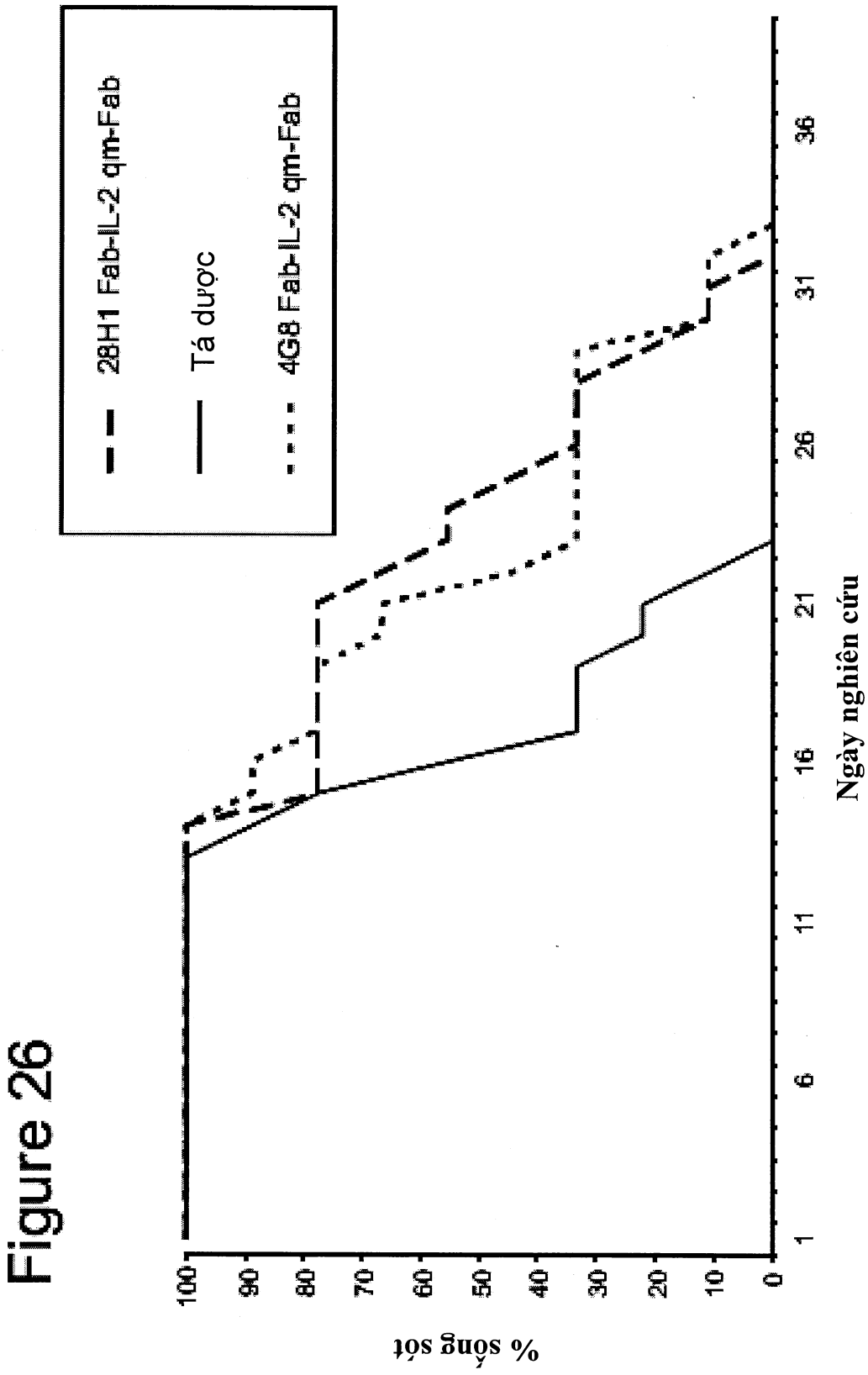

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
Tá dược
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
% sống sót
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
Ngày nghiên cứu

Figure 26

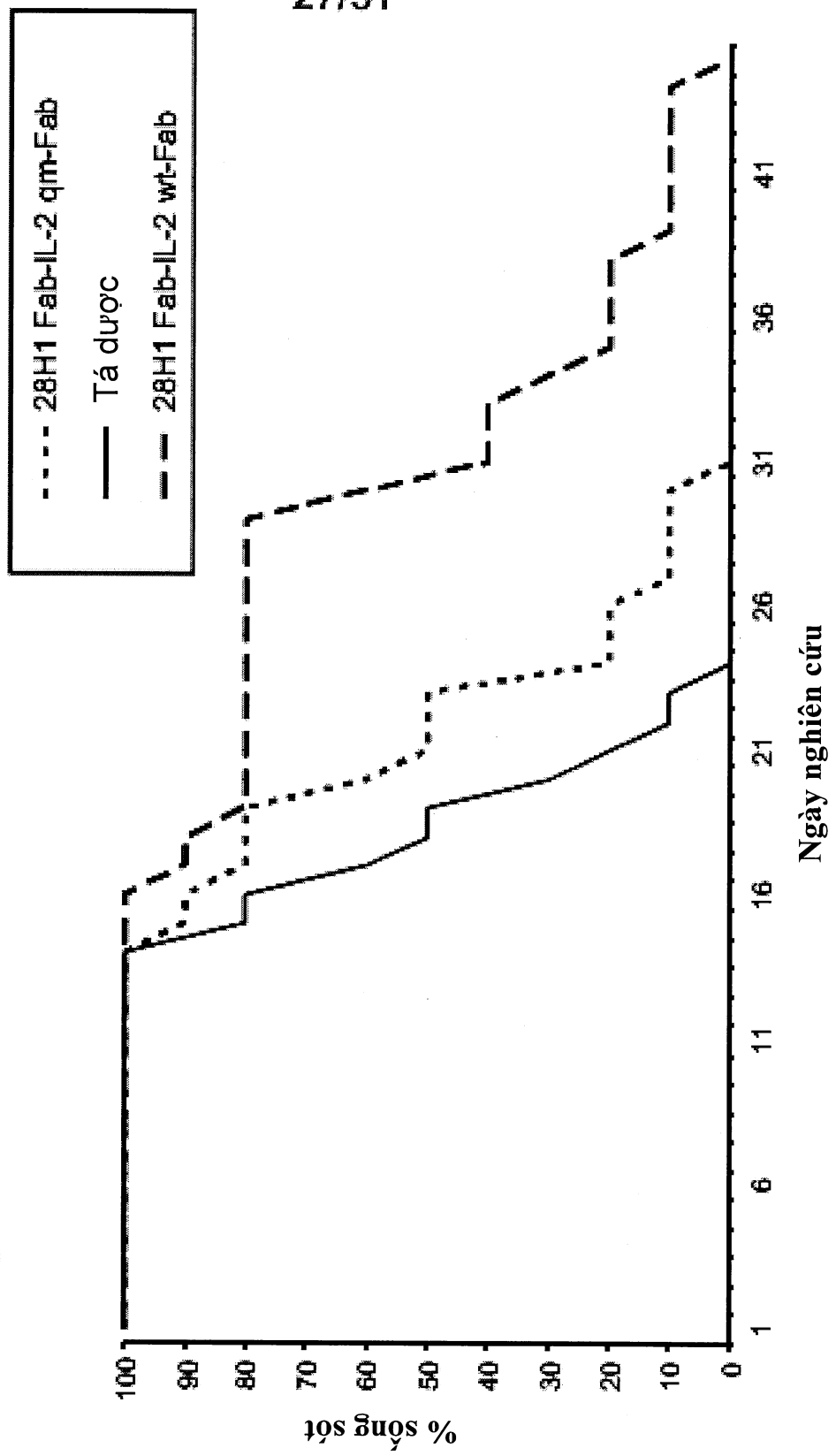

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
Tá dược
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
% sống sót
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
41
Ngày nghiên cứu

Figure 27

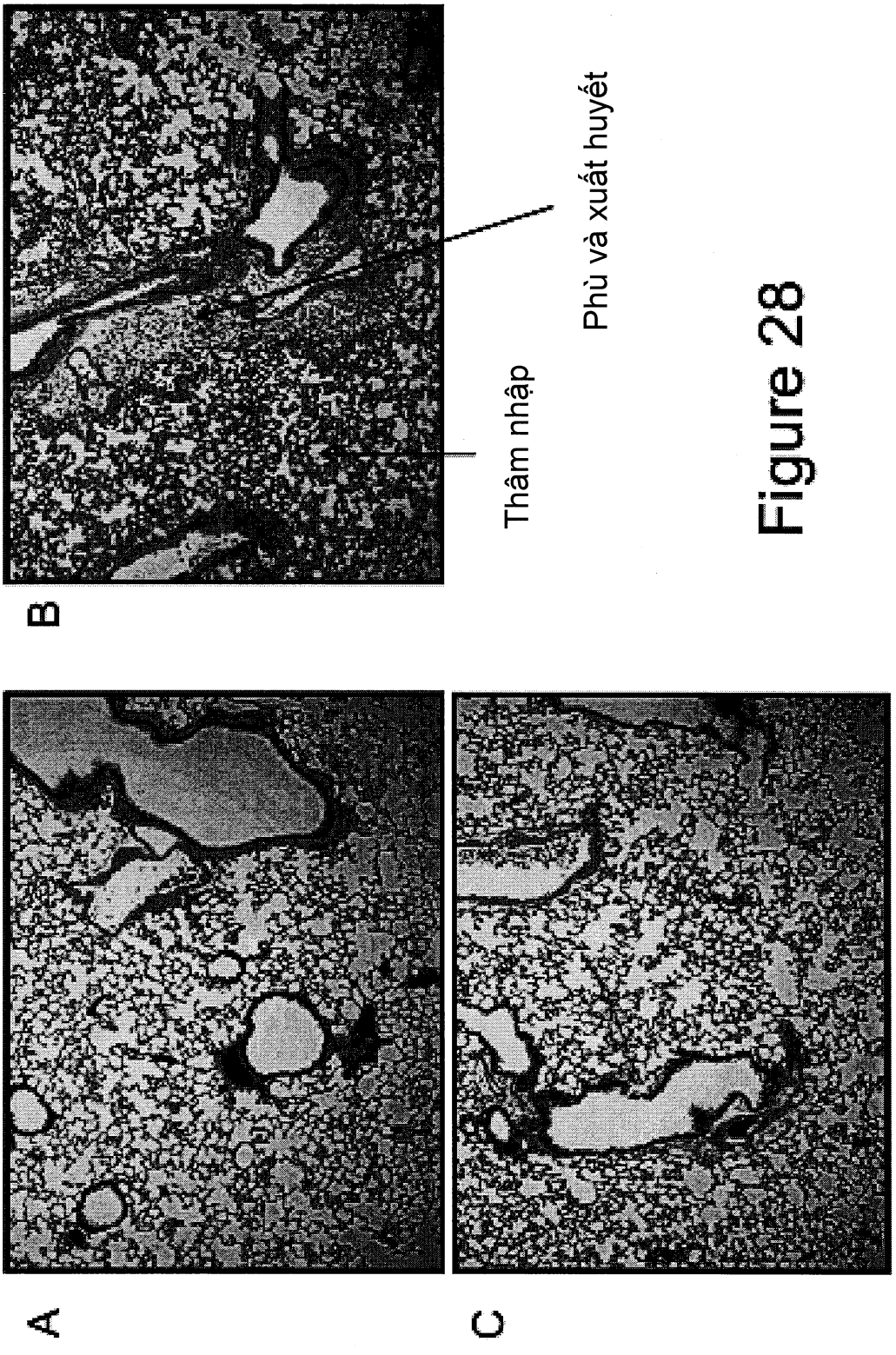


Figure 28

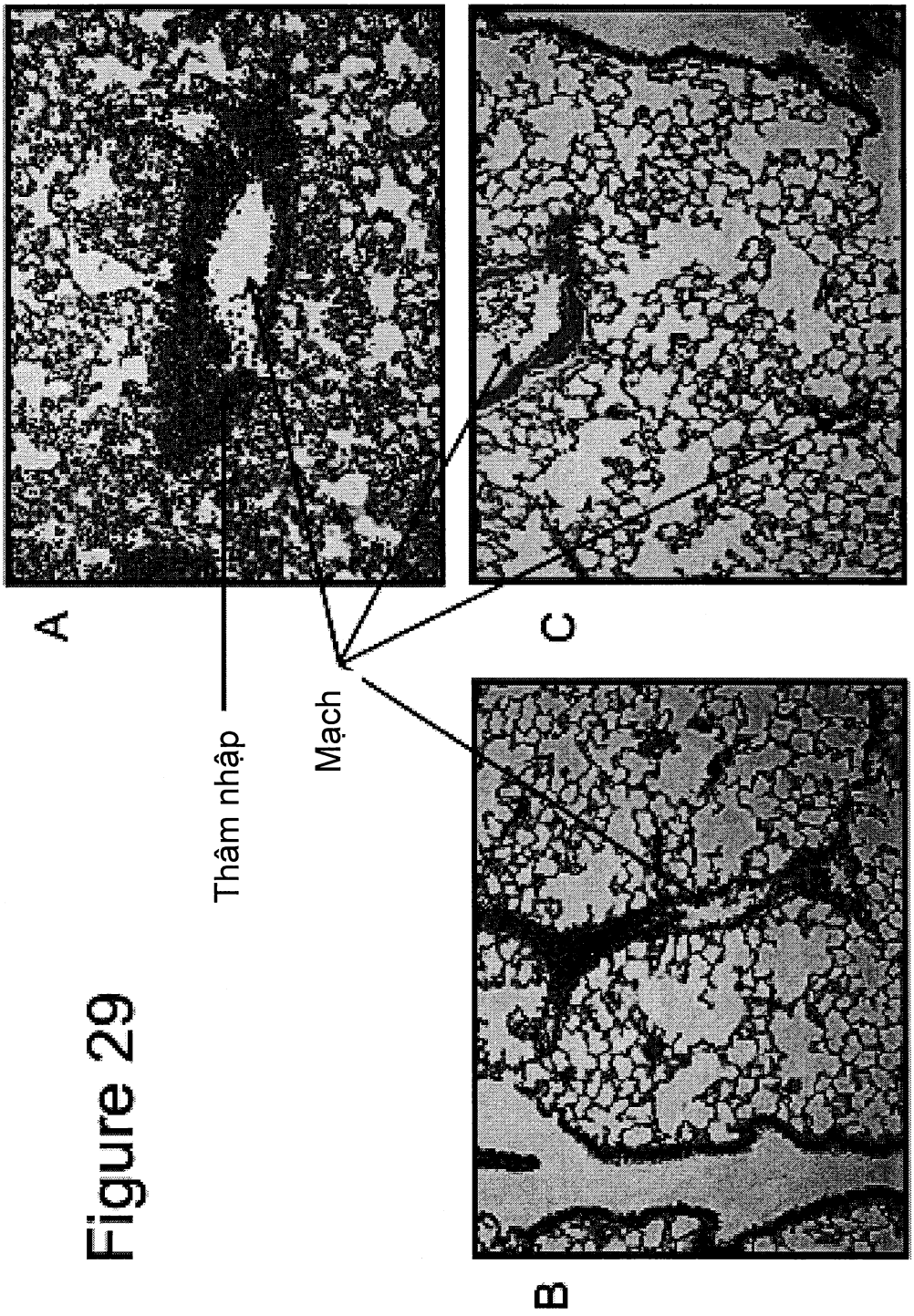


Figure 29

30/51

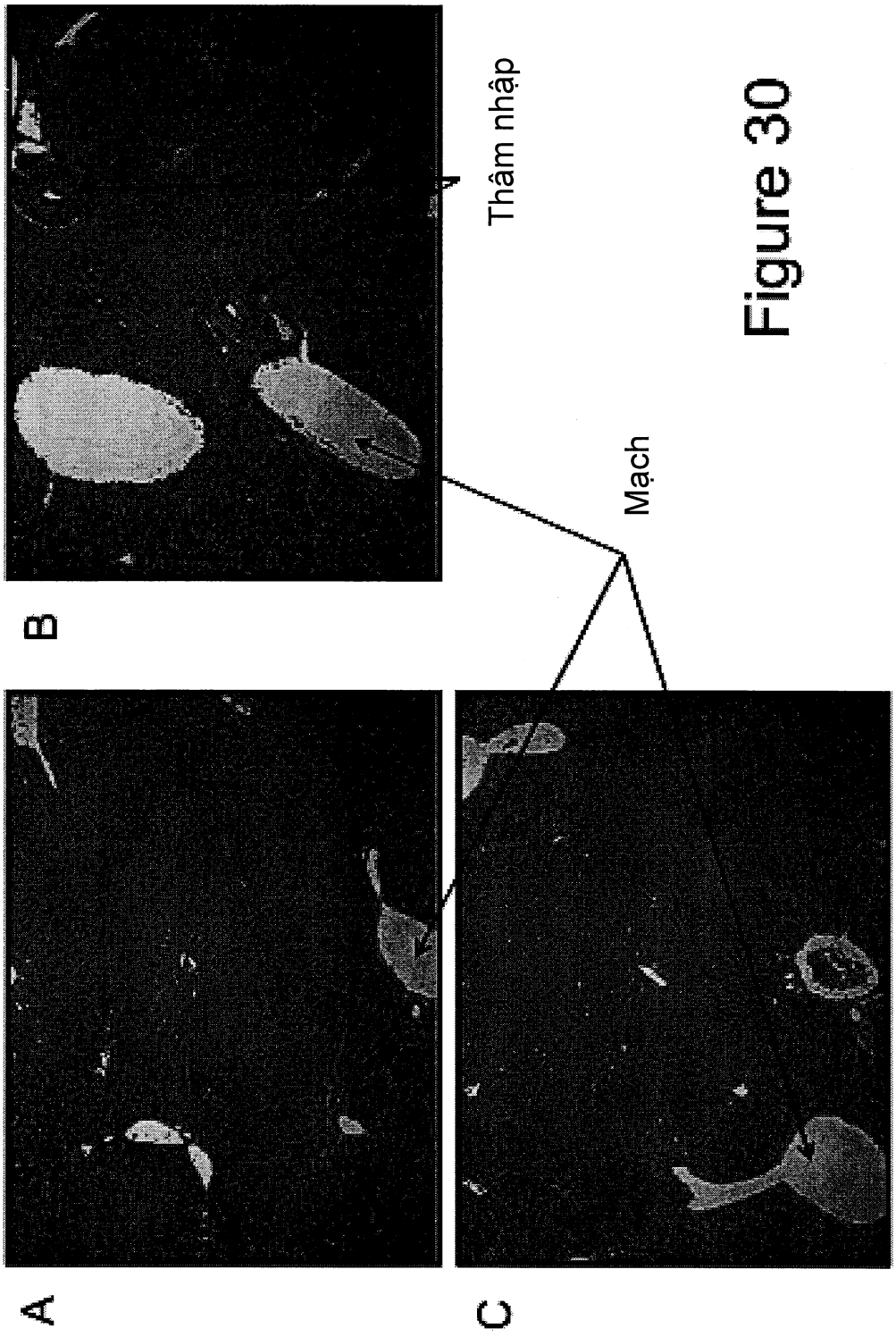


Figure 30

Figure 31

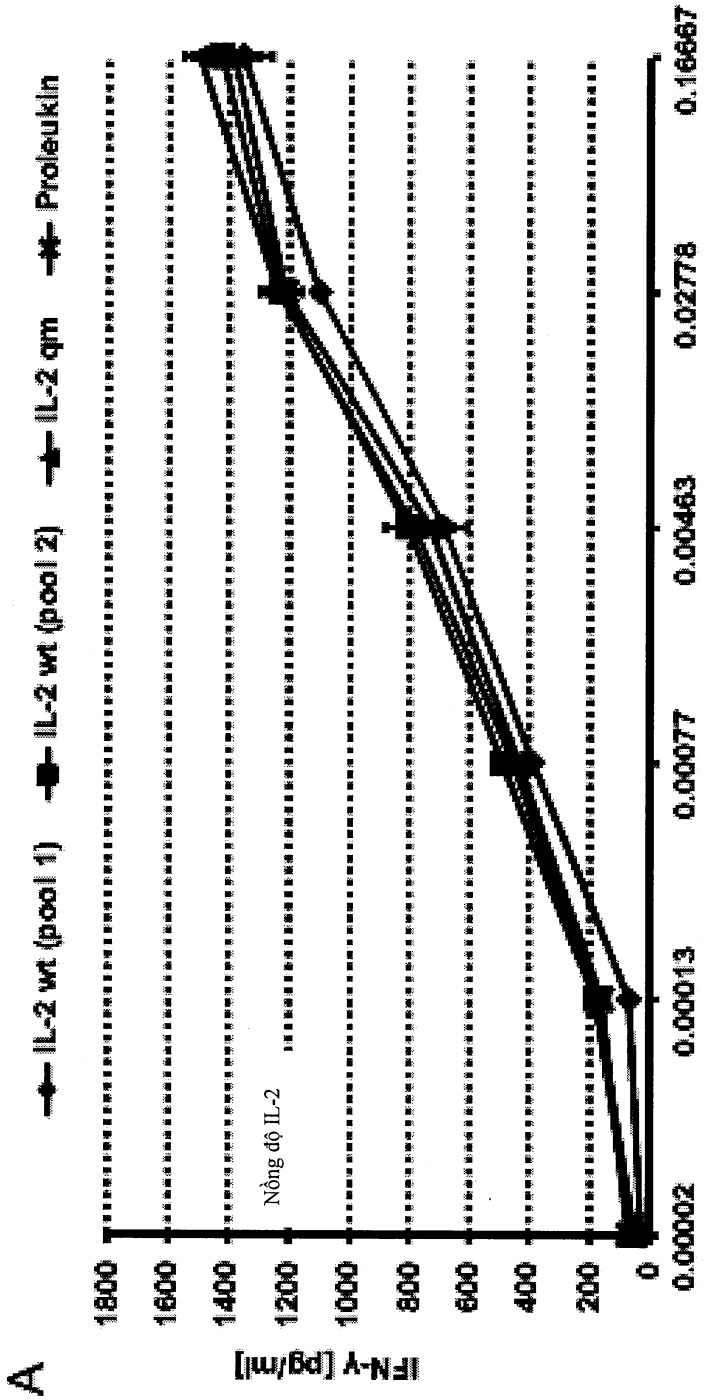

A
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0.00002
0.00013
0.00077
0.00463
0.02778
0.16667
IL-2 concentration [µM]
IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleukin
Nồng độ IL-2
Mạch

Figure 31

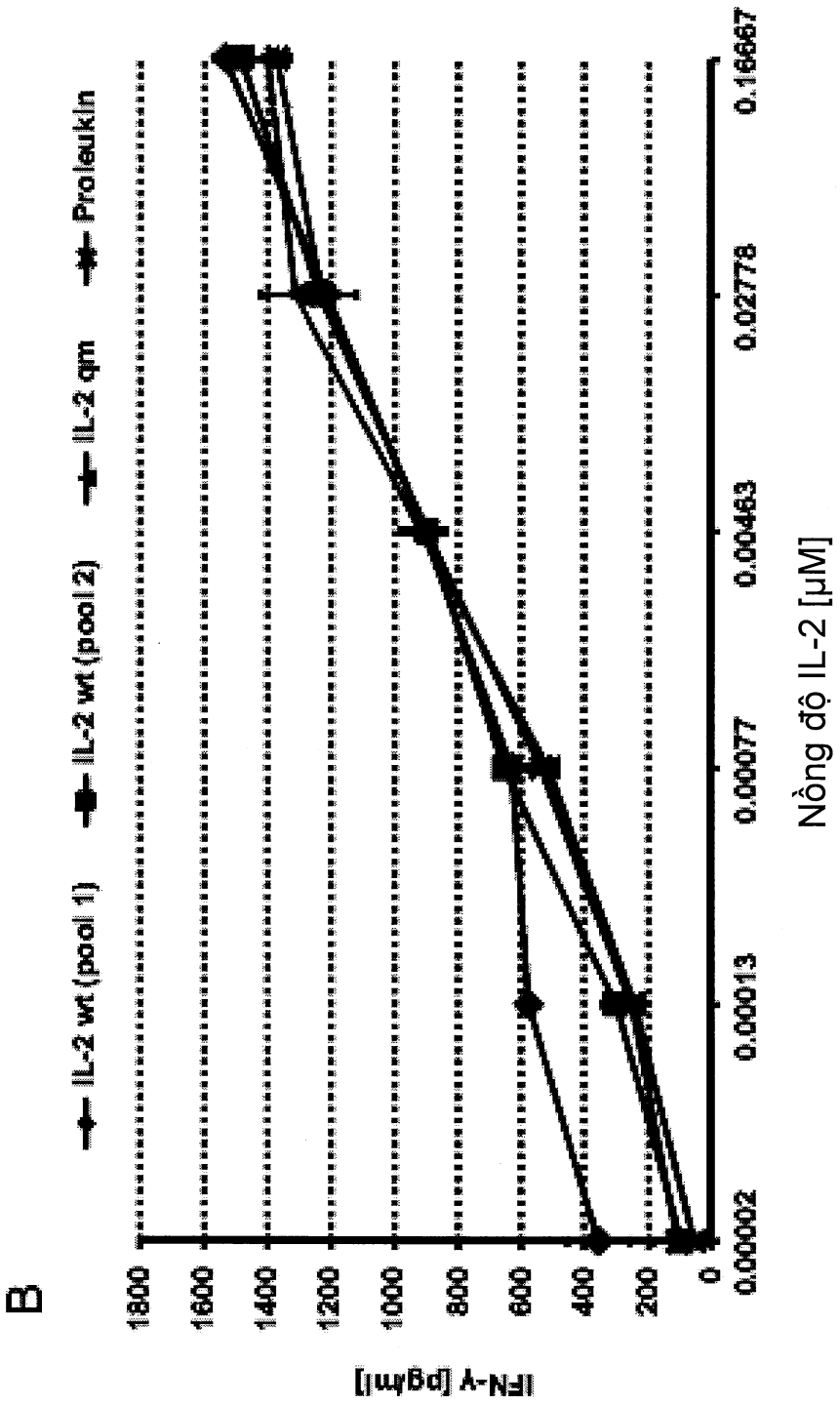

B
IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleukin
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0.00002
0.00013
0.00077
0.00463
0.02778
0.16667
Nồng độ IL-2 [µM]

Figure 32

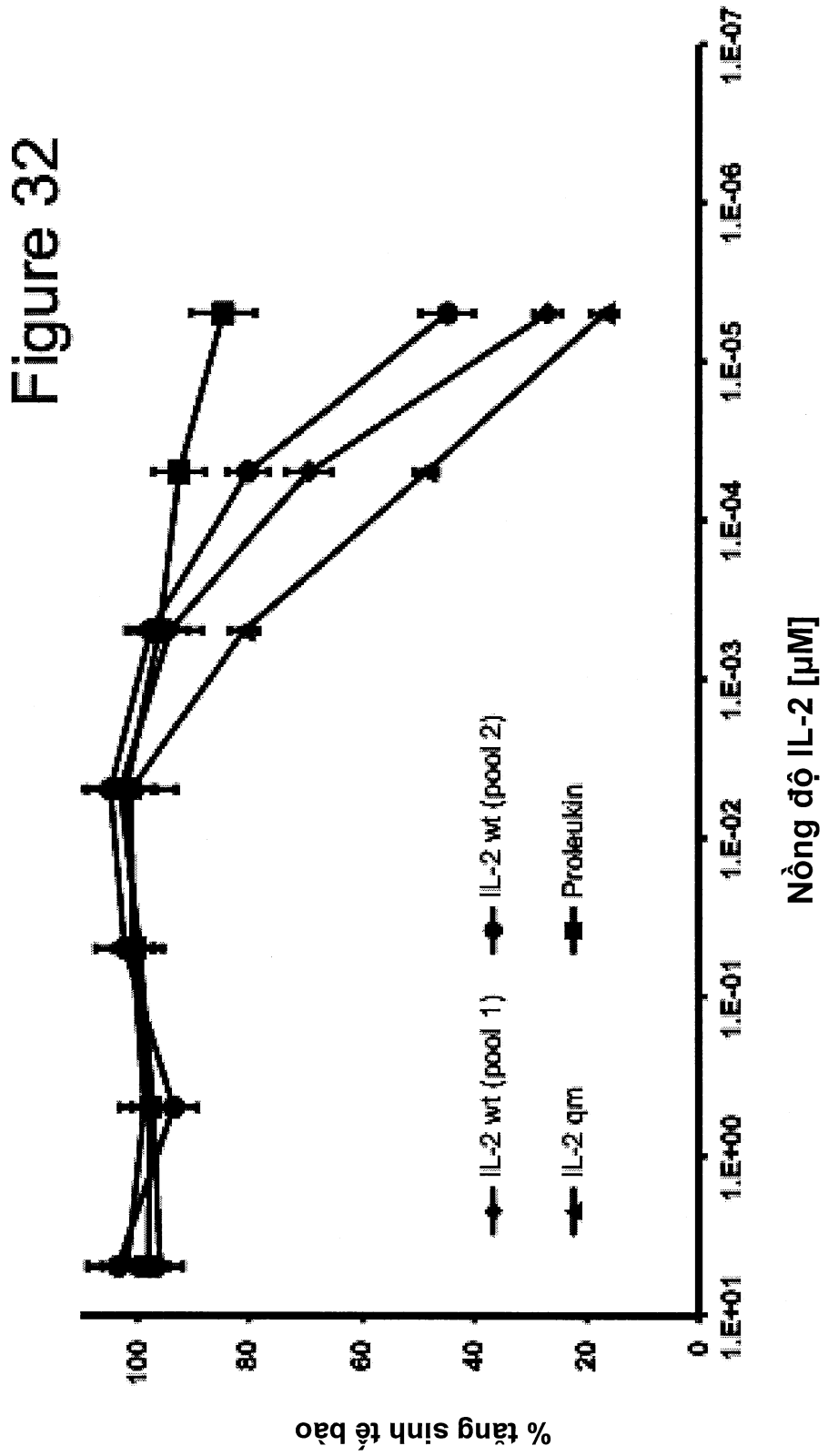
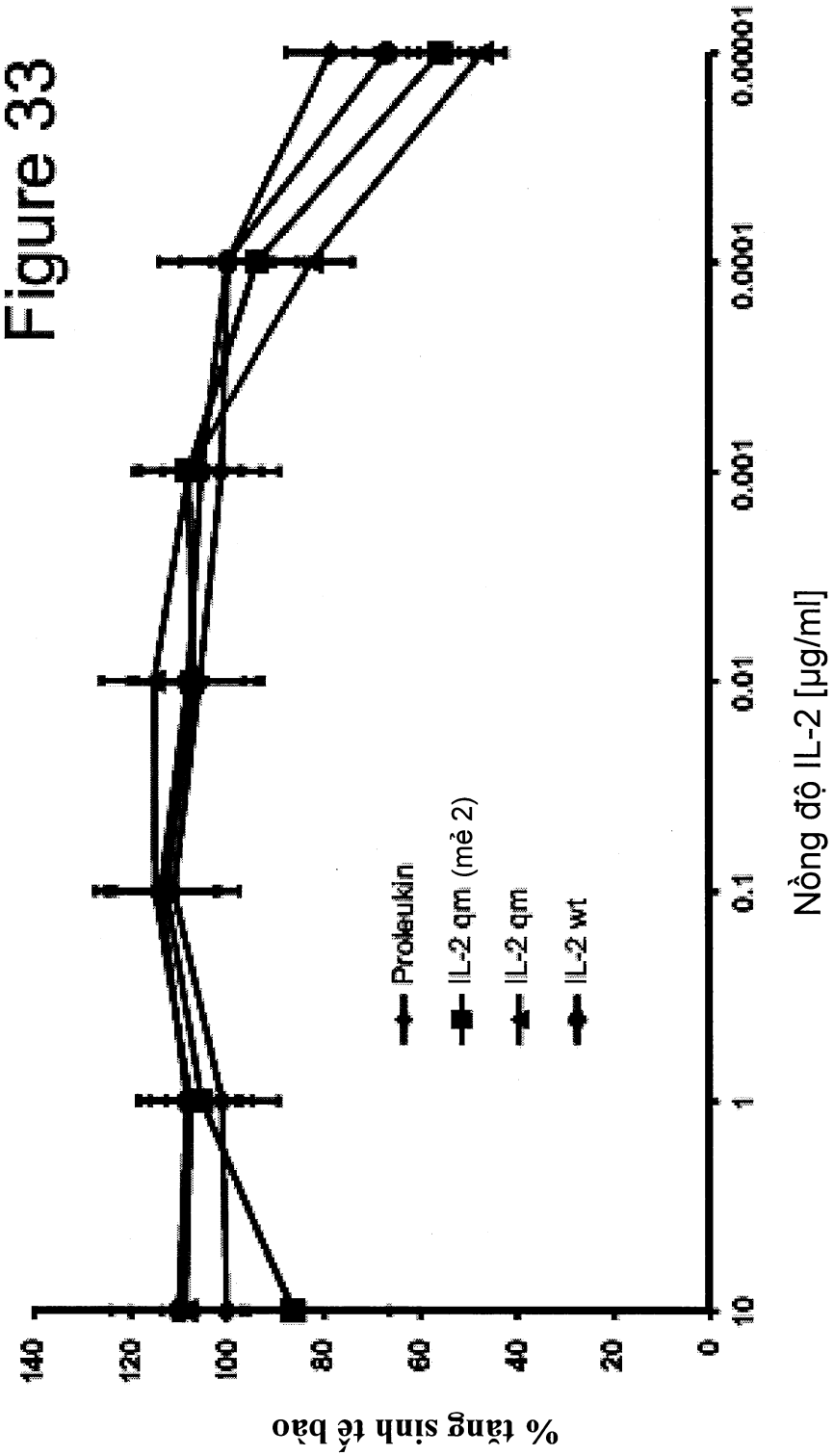

% tăng sinh tế bào
100
80
60
40
20
0
1.E+01
1.E+00
1.E-01
1.E-02
1.E-03
1.E-04
1.E-05
1.E-06
1.E-07
Nồng độ IL-2 [µM]
IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleukin

Figure 33


% tăng sinh tế bào
140
120
100
80
60
40
20
0
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
Nồng độ IL-2 [µg/ml]
Proleukin
IL-2 qm (mẻ 2)
IL-2 qm
IL-2 wt

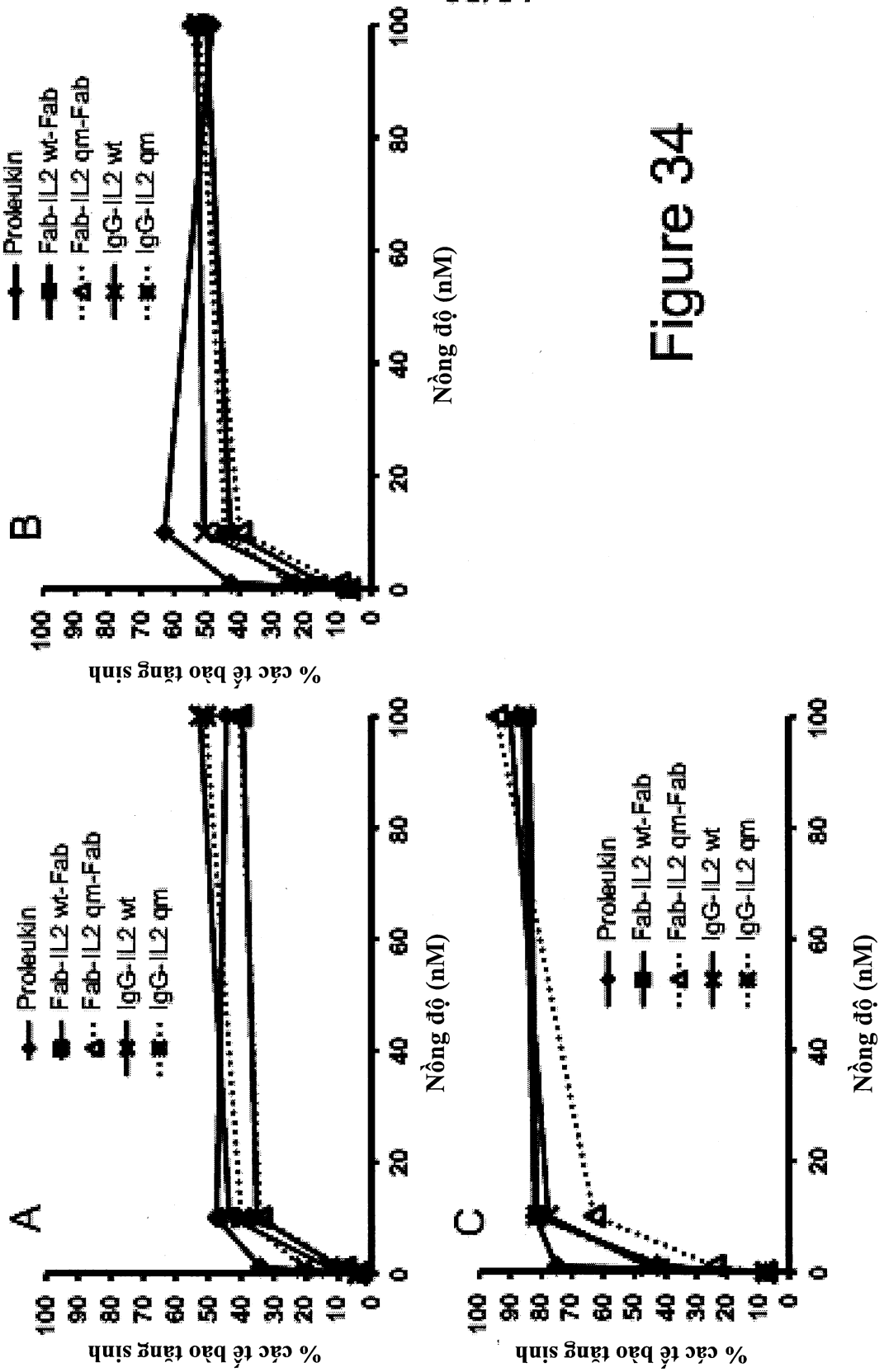

A
B
C
Proleukin
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% các tế bào tăng sinh
Nồng độ (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100

Figure 34

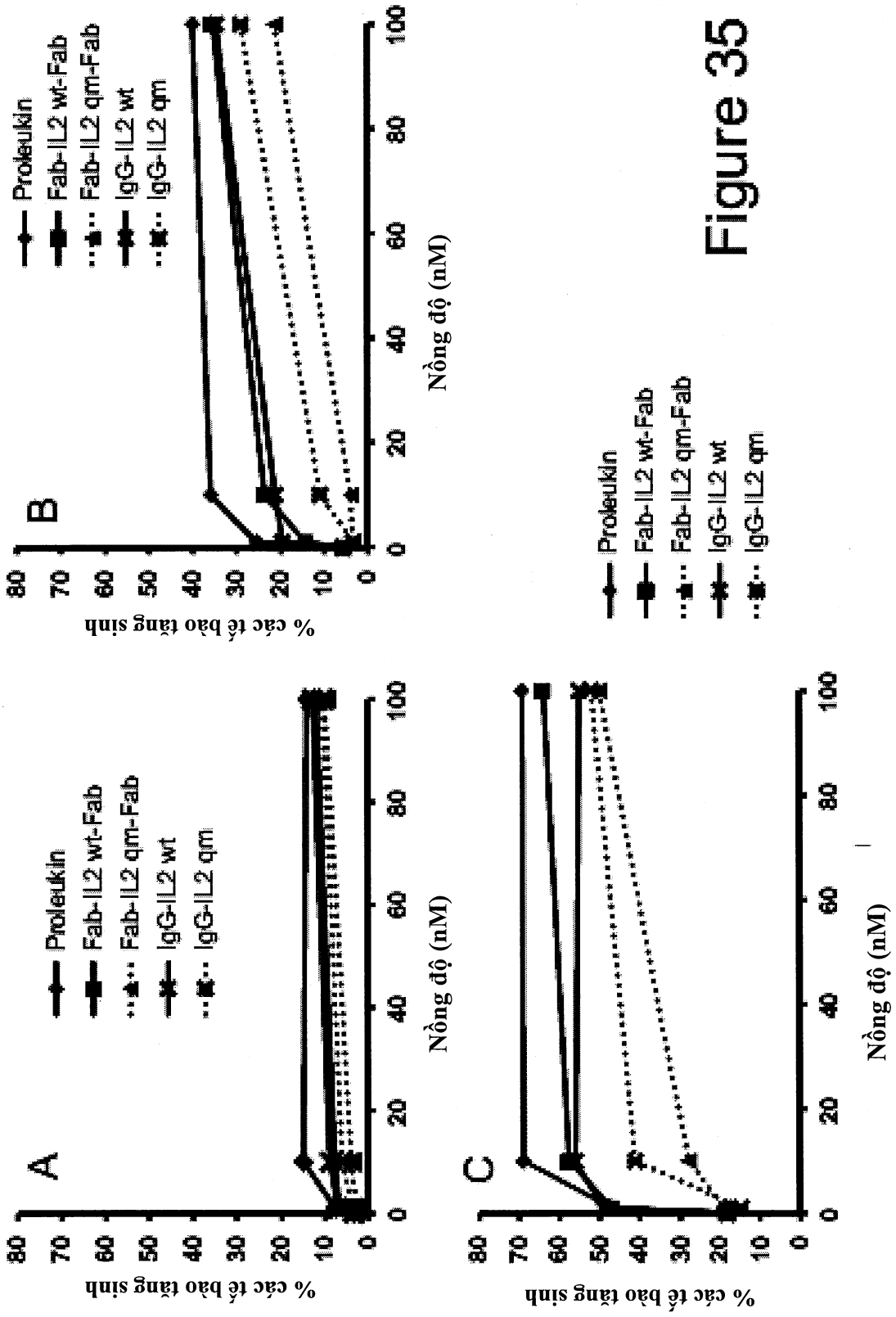

A
B
C
Proleukin
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% các tế bào tăng sinh
Nồng độ (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0
20
40
60
80
100

Figure 35

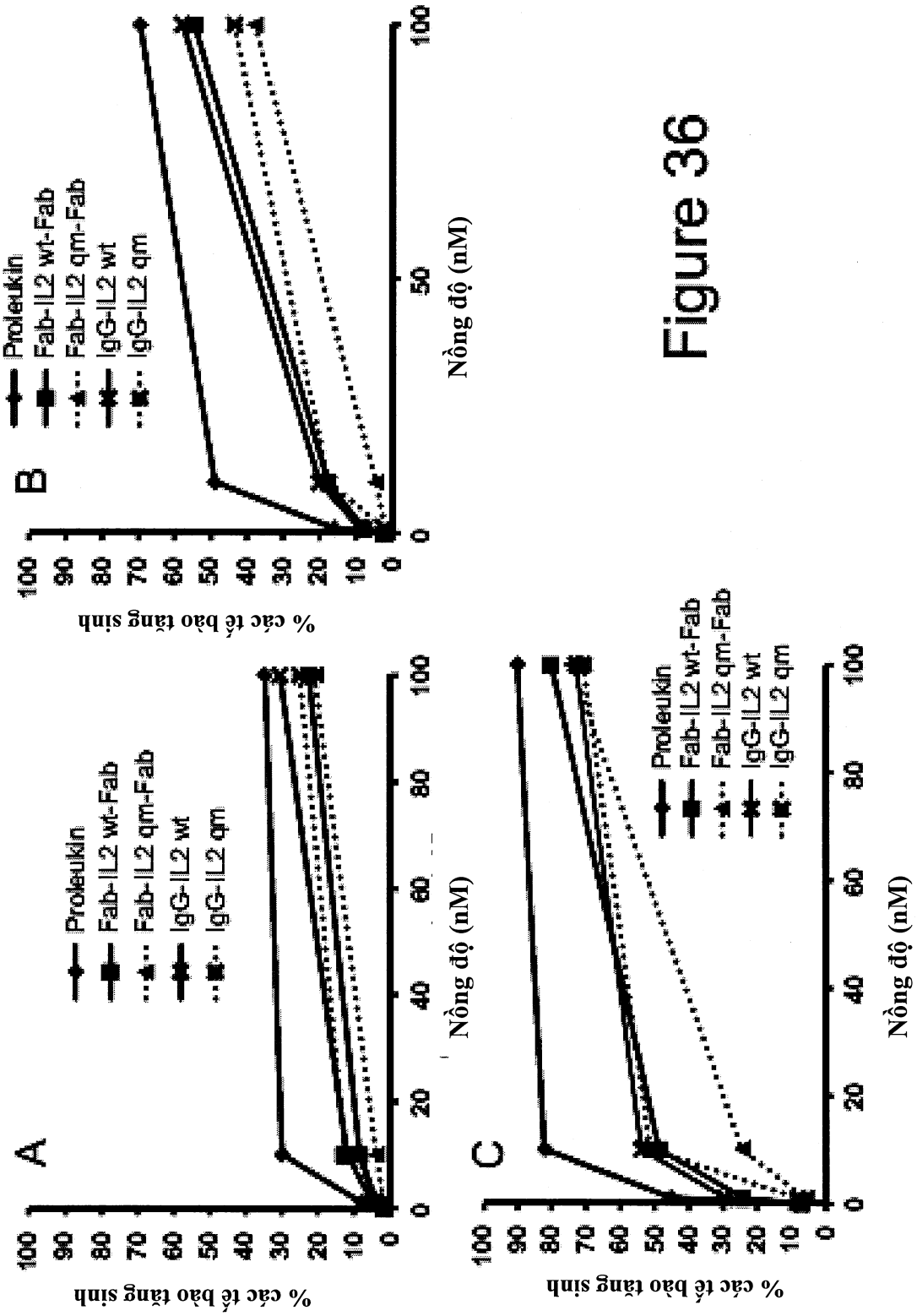

A
B
C
Proleukin
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% các tế bào tăng sinh
Nồng độ (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

Figure 36

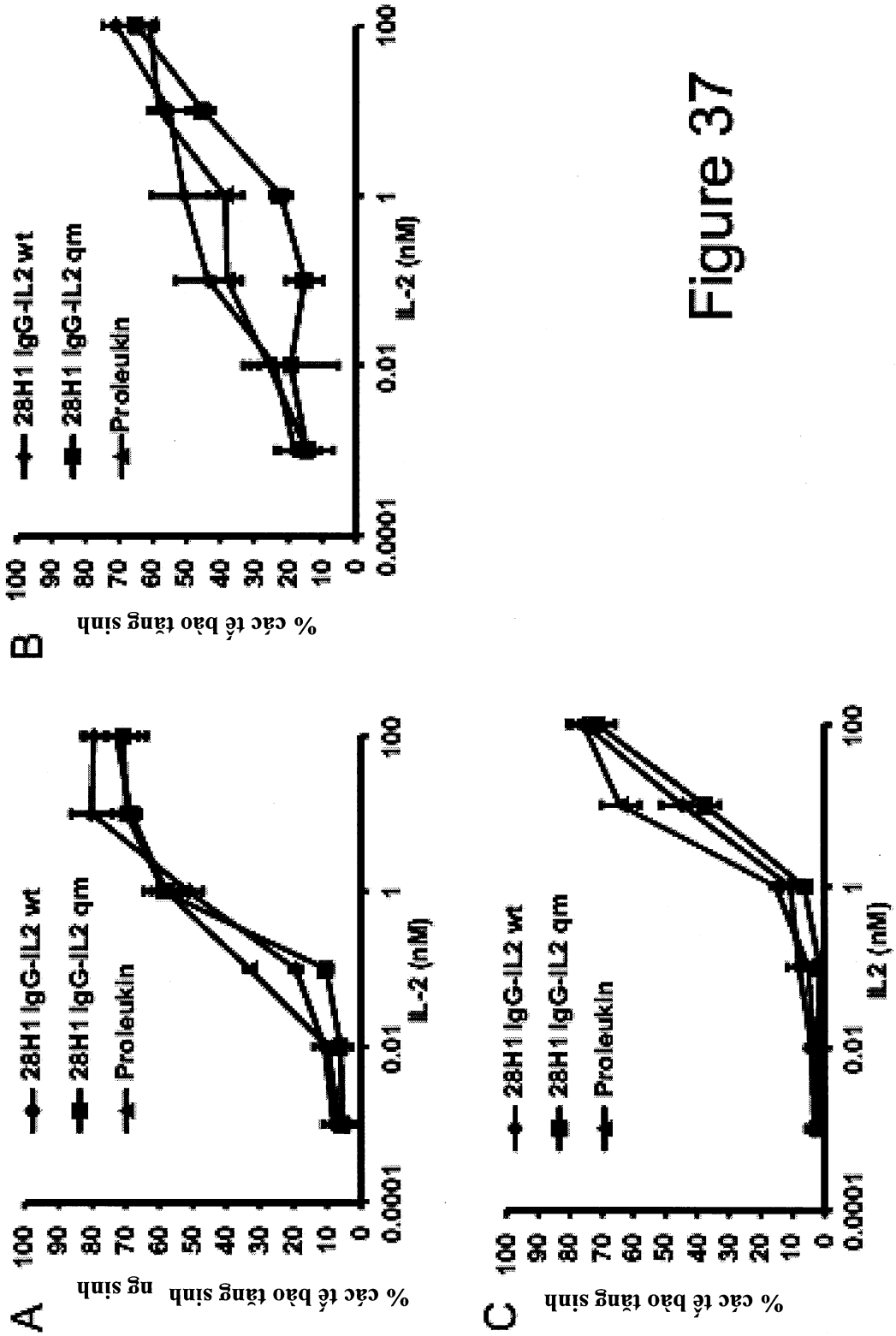
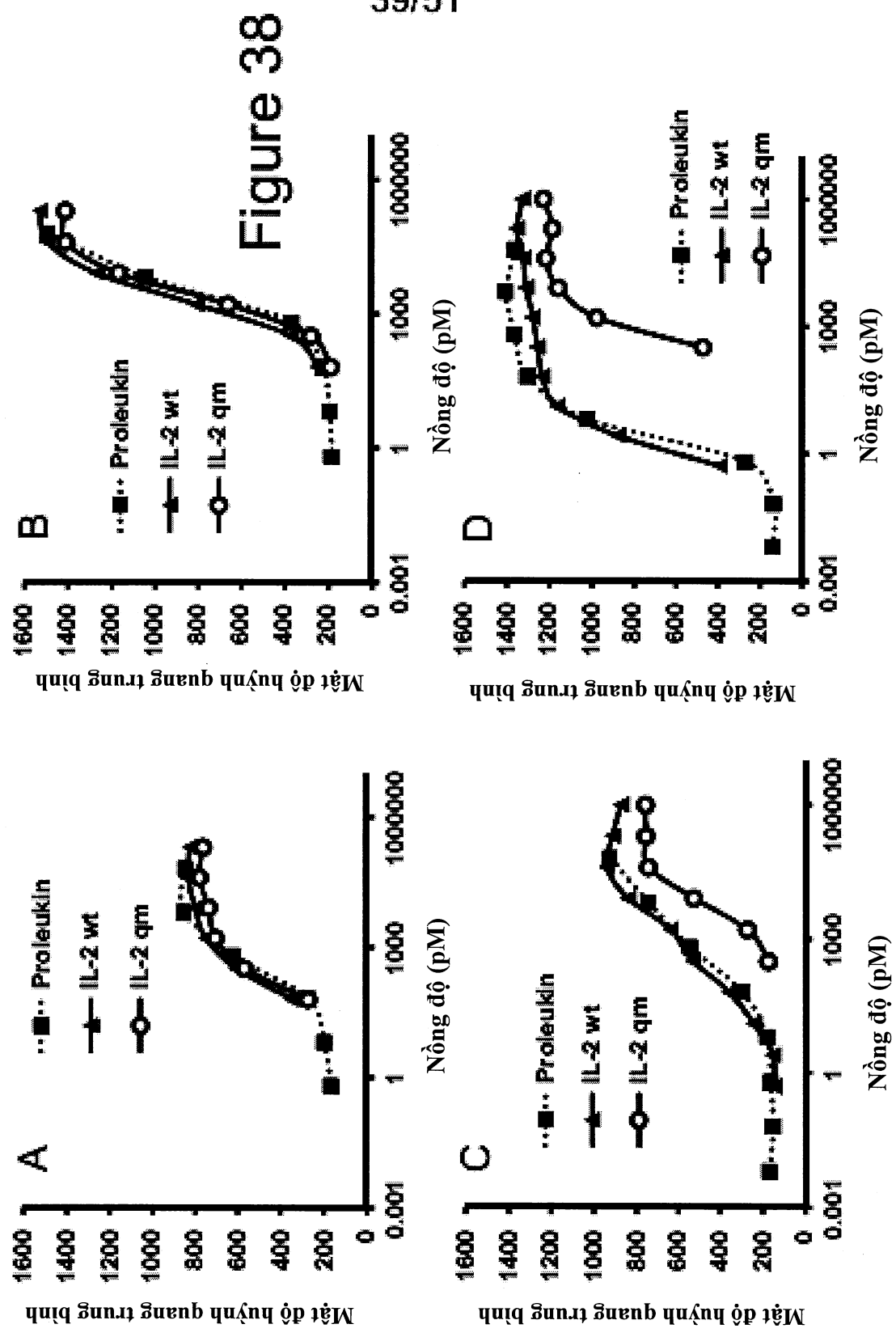

A
% các tế bào tăng sinh
ng sinh
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleukin
IL-2 (nM)
B
% các tế bào tăng sinh
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleukin
IL-2 (nM)
C
% các tế bào tăng sinh
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleukin
IL2 (nM)

Figure 37

Figure 38


A
B
C
D
Proleukin
IL-2 wt
IL-2 qm
Mật độ huỳnh quang trung bình
Nồng độ (pM)
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
0.001
1
1000
1000000

A
B
C
D
Proleukin
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
Mật độ huỳnh quang trung bình
Nồng độ (pM)
2500
2000
1500
1000
500
0
0.001
1
1000
1000000

Figure 39

41/51

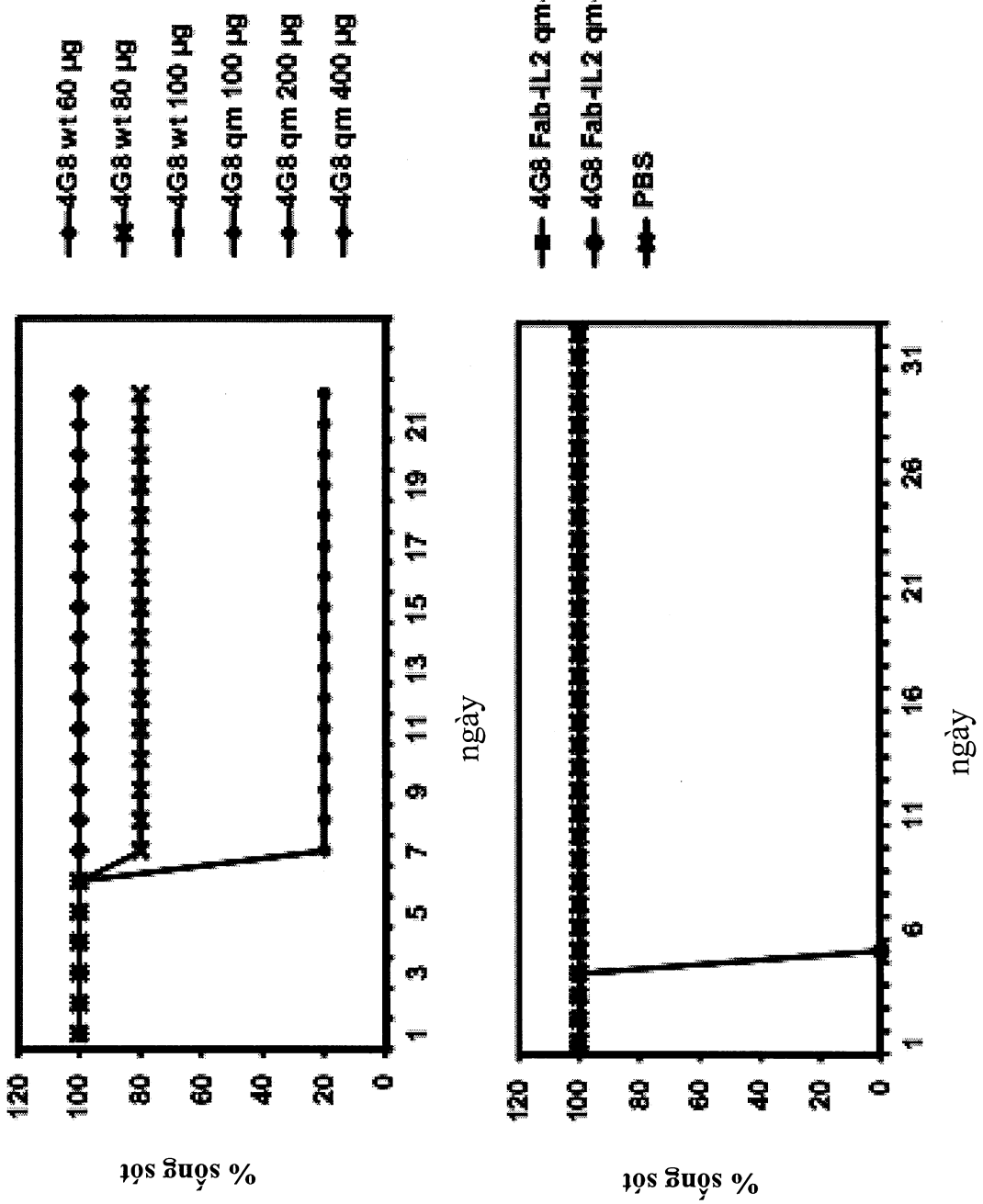


Figure 40

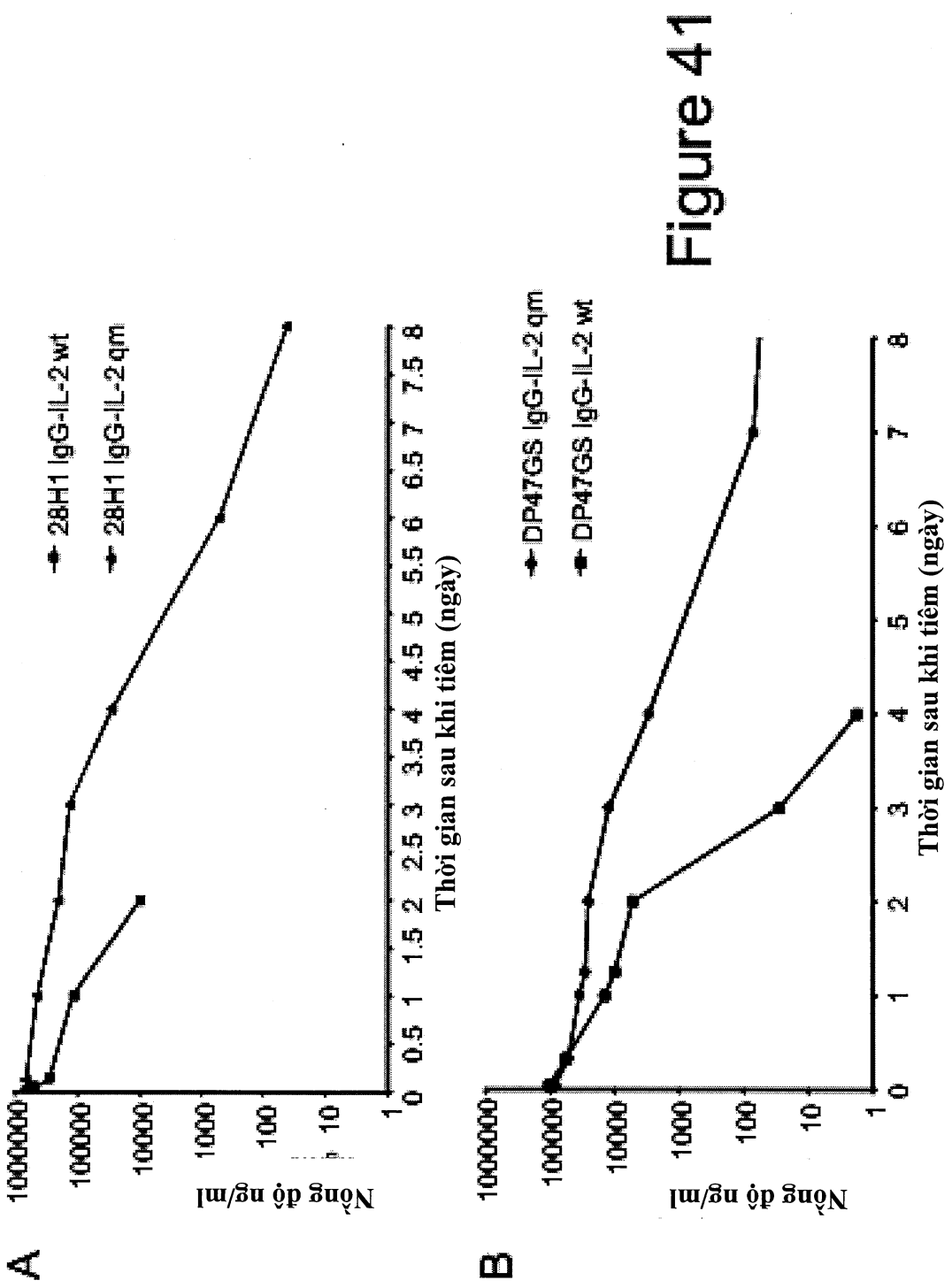

A
28H1 IgG-IL-2 wt
28H1 IgG-IL-2 qm
Nồng độ ng/ml
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8
Thời gian sau khi tiêm (ngày)
B
DP47GS IgG-IL-2 qm
DP47GS IgG-IL-2 wt
Nồng độ ng/ml
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0 1 2 3 4 5 6 7 8
Thời gian sau khi tiêm (ngày)

Figure 41

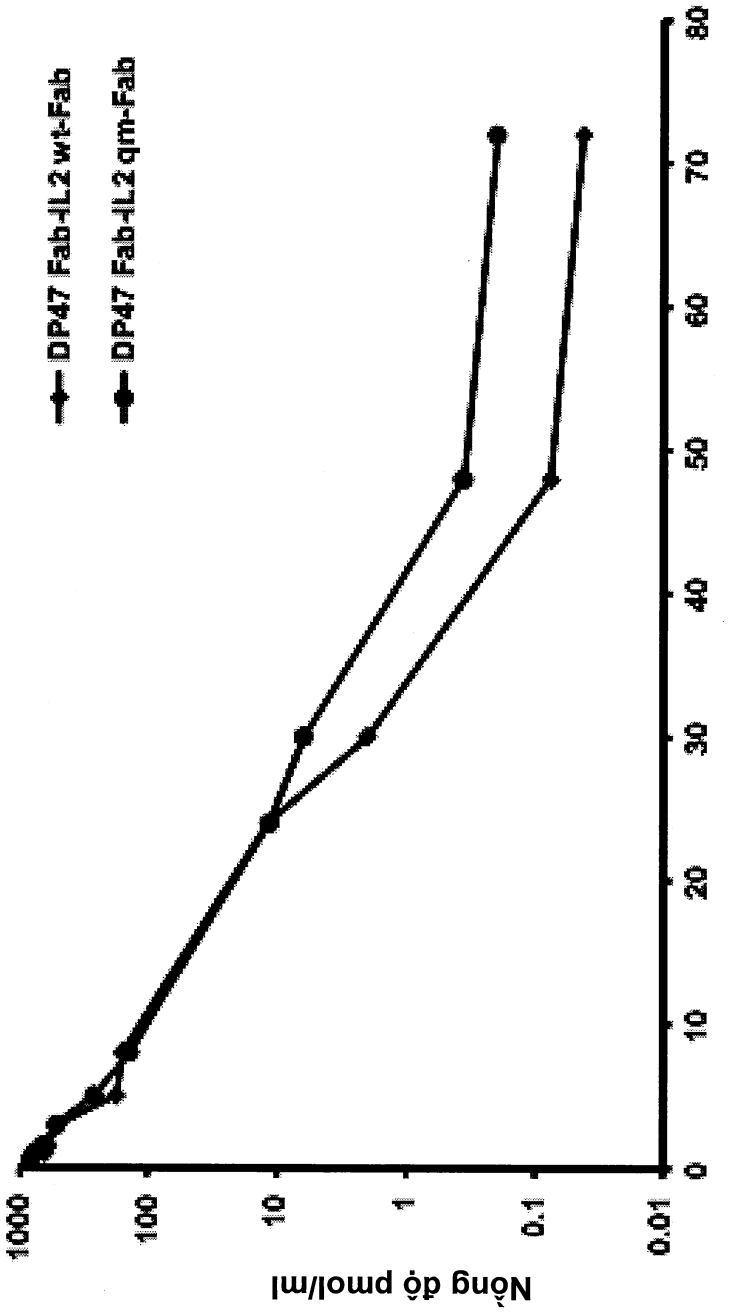

DP47 Fab-IL2 wt-Fab
DP47 Fab-IL2 qm-Fab
Nồng độ pmol/ml
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Thời gian sau khi tiêm

Figure 42

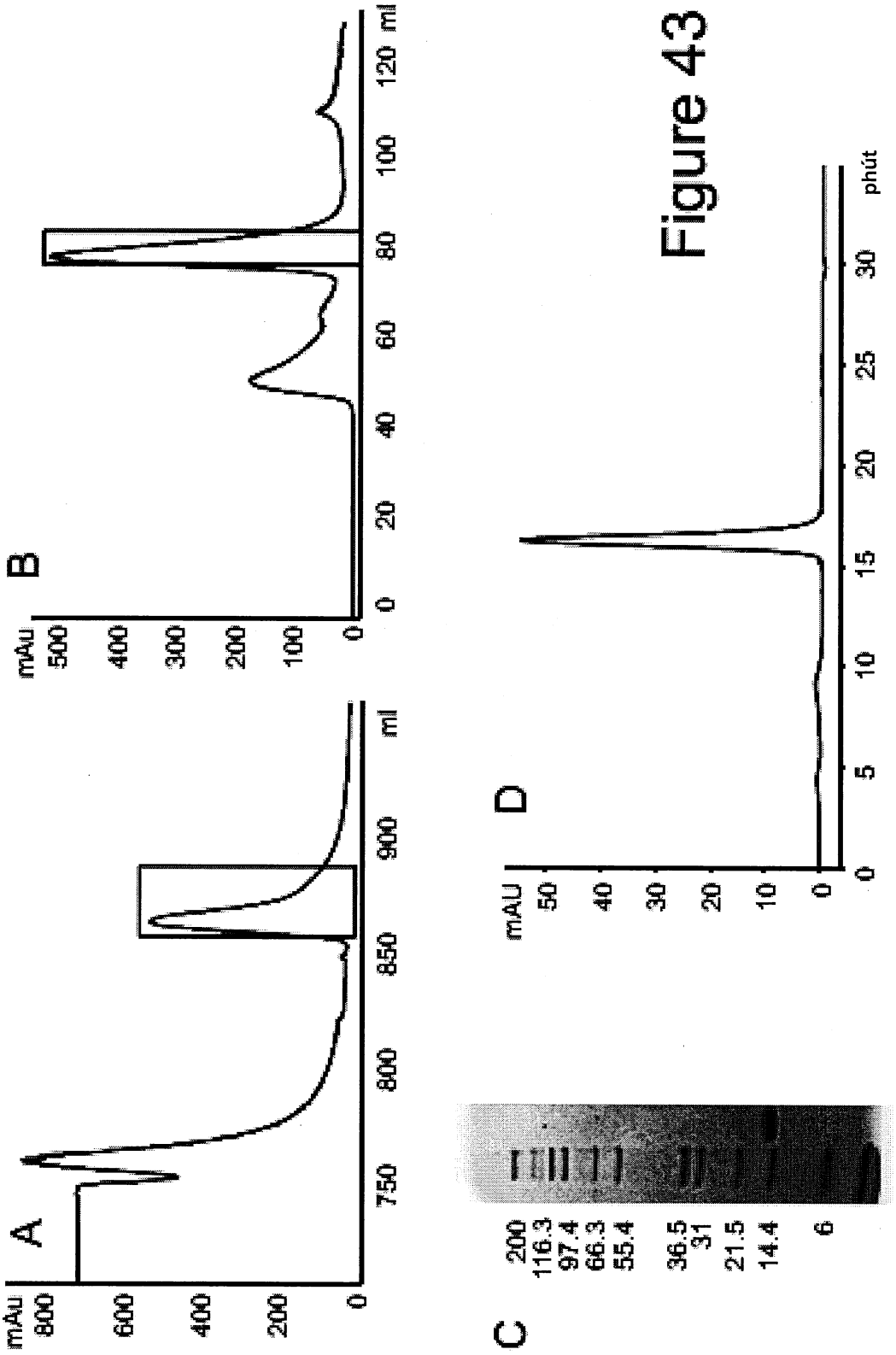

A
mAu
800
600
400
200
0
750
800
850
900
ml
B
mAu
500
400
300
200
100
0
0
20
40
60
80
100
120
ml
C
200
116.3
97.4
66.3
55.4
36.5
31
21.5
14.4
6
D
mAU
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
phút

Figure 43

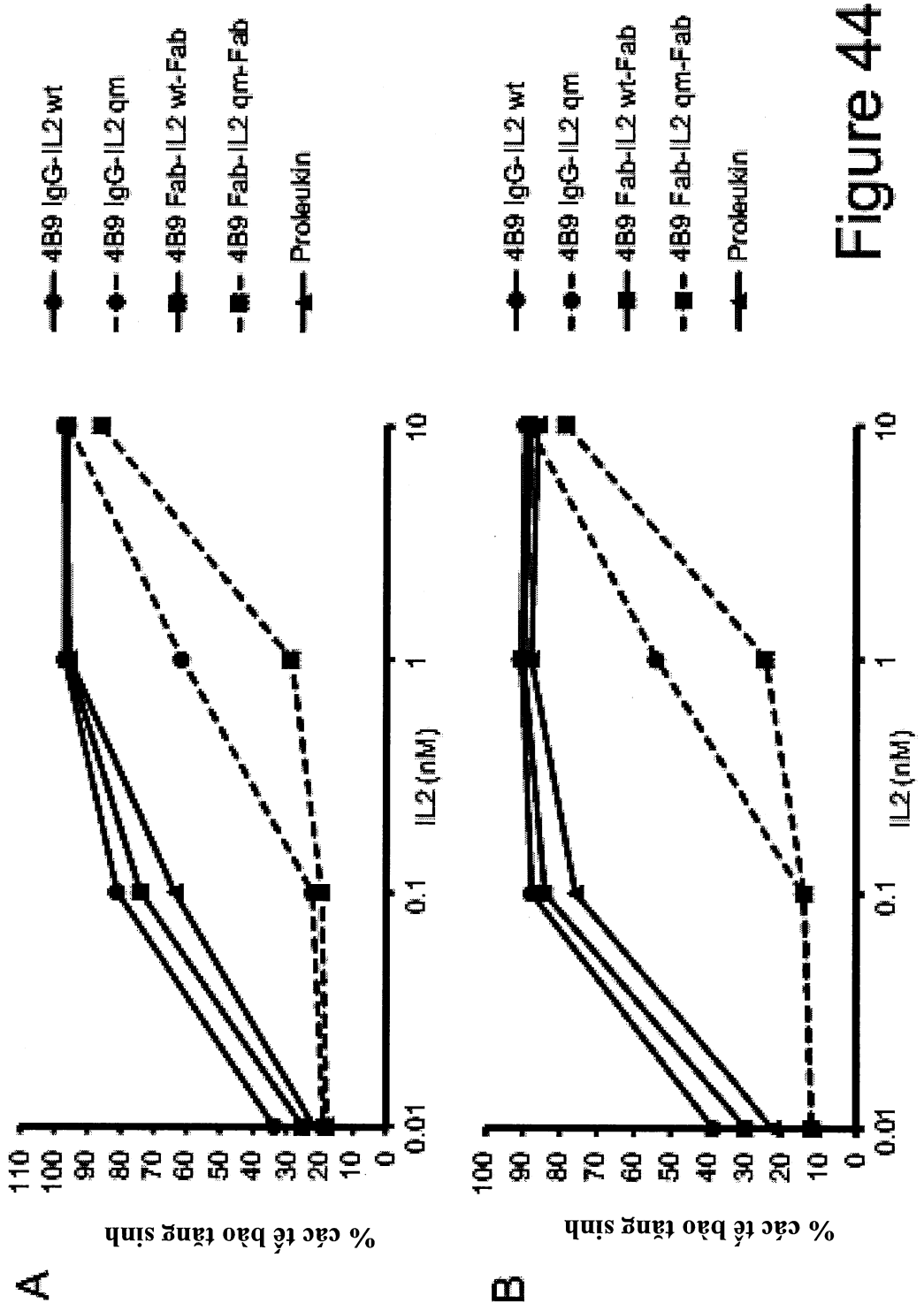

A
B
% các tế bào tăng sinh
IL2 (nM)
0.01
0.1
1
10
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
Proleukin

Figure 44

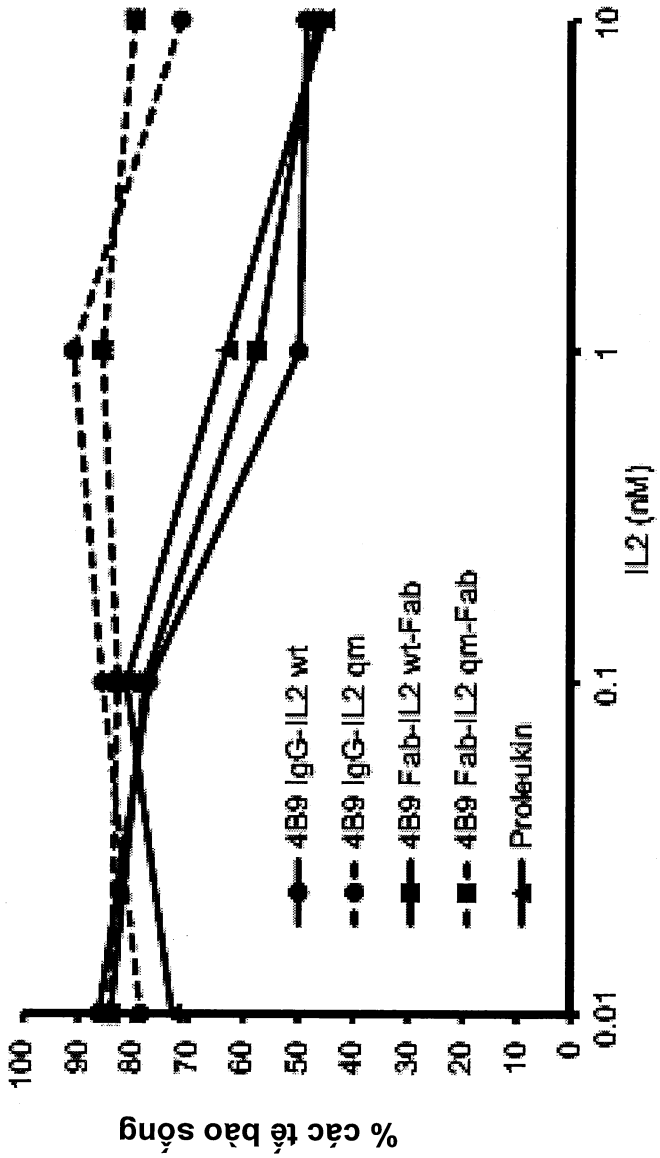

% các tế bào sống
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
IL2 (nM)
4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
Proleukin

Figure 45

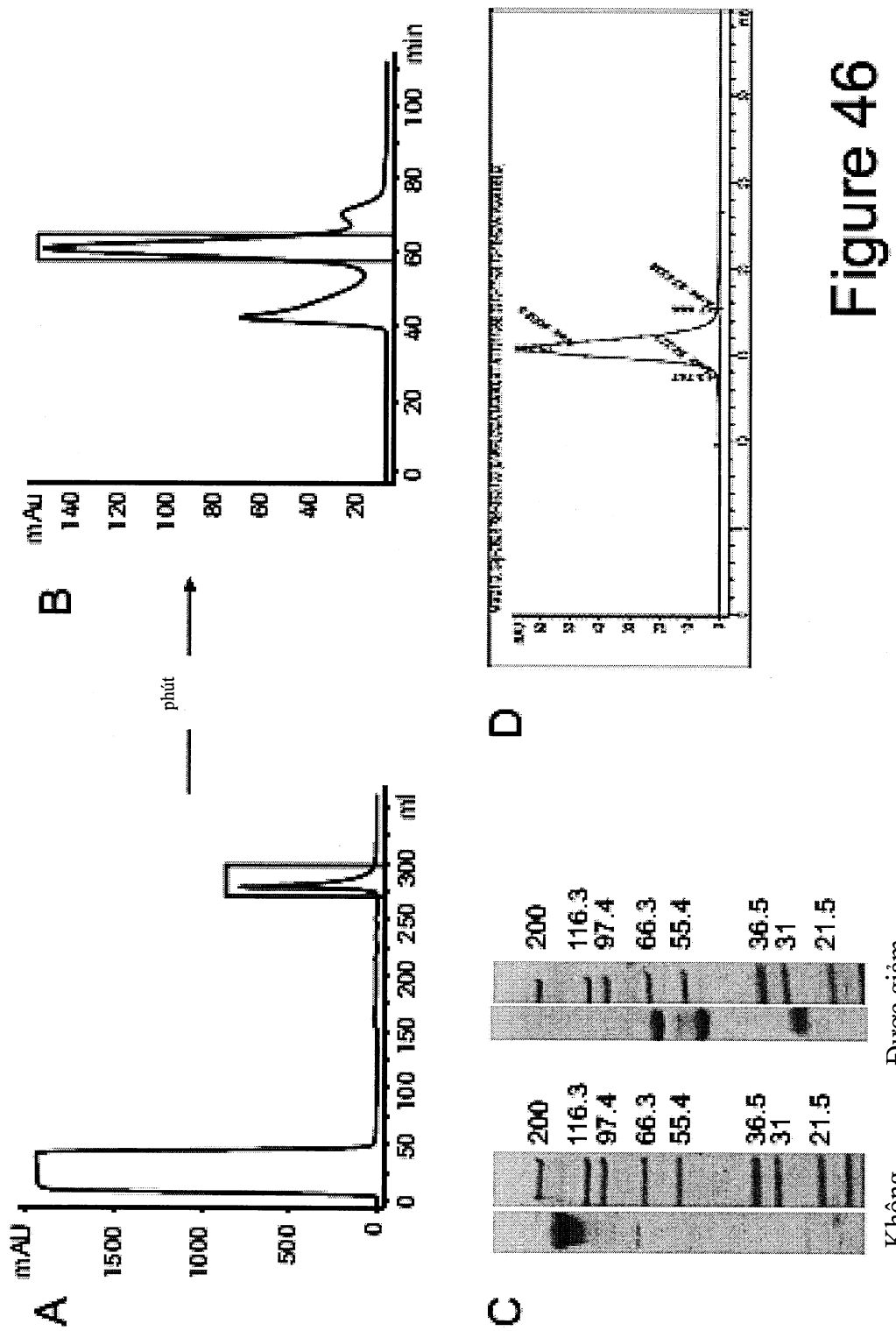

A
mAU
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 ml
phút
B
mAU
140
120
100
80
60
40
20
0 20 40 60 80 100 min
D
C
200
116.3
97.4
66.3
55.4
36.5
31
21.5
Được giảm
Không được giảm

Figure 46

48/51

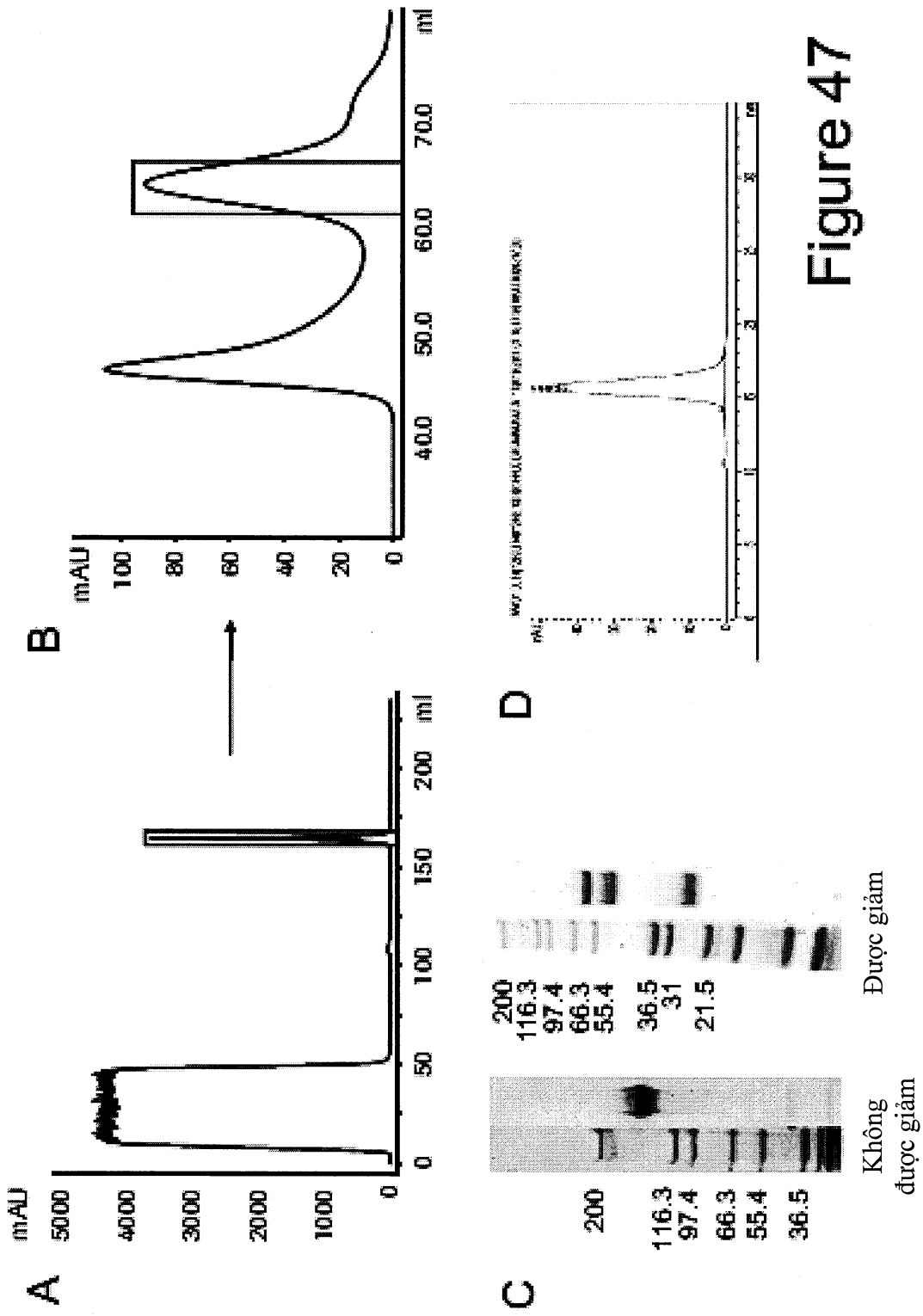


Figure 47

Figure 48

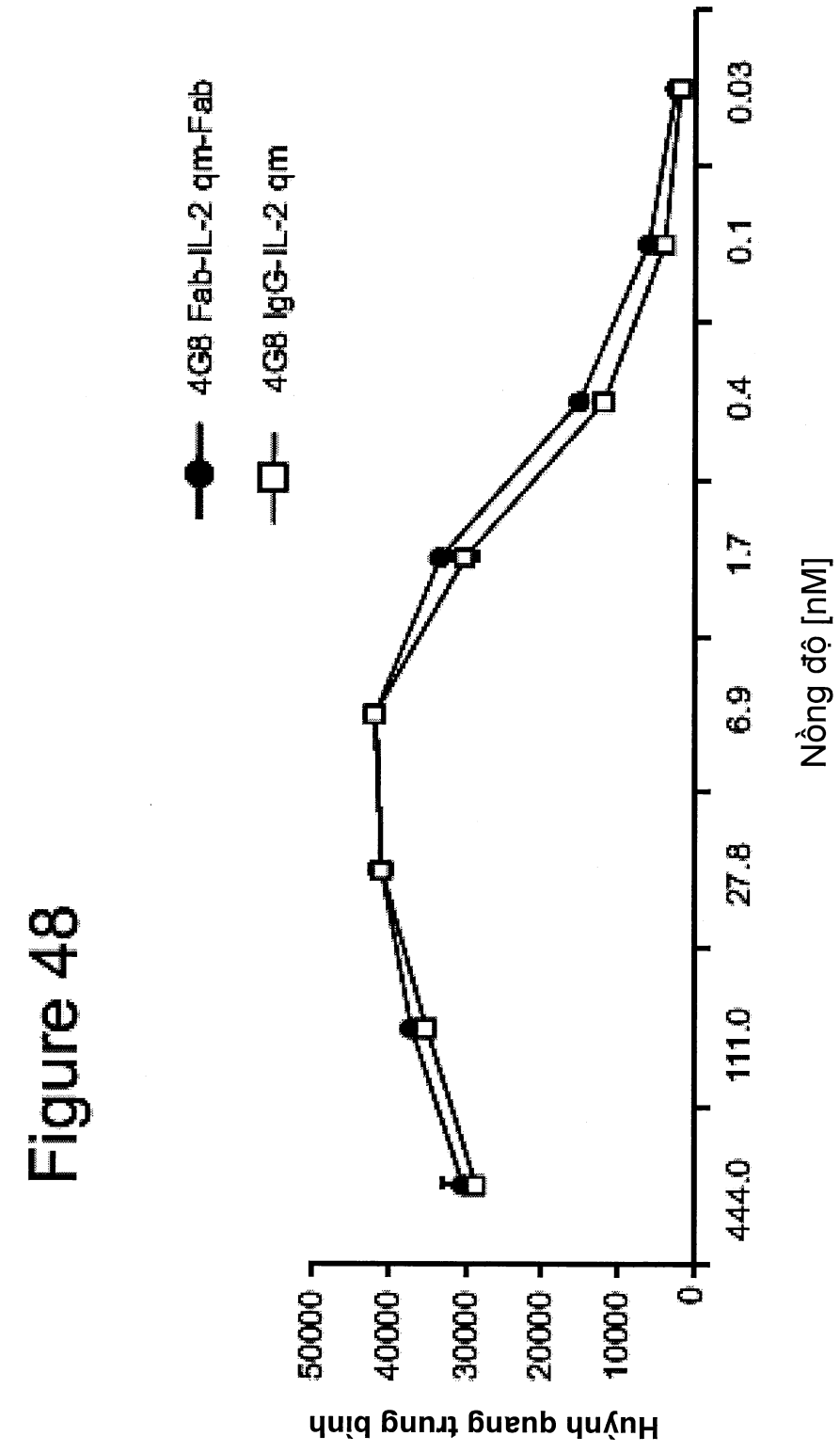

4G8 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
Huỳnh quang trung bình
50000
40000
30000
20000
10000
0
444.0
111.0
27.8
6.9
1.7
0.4
0.1
0.03
Nồng độ [nM]

Figure 49

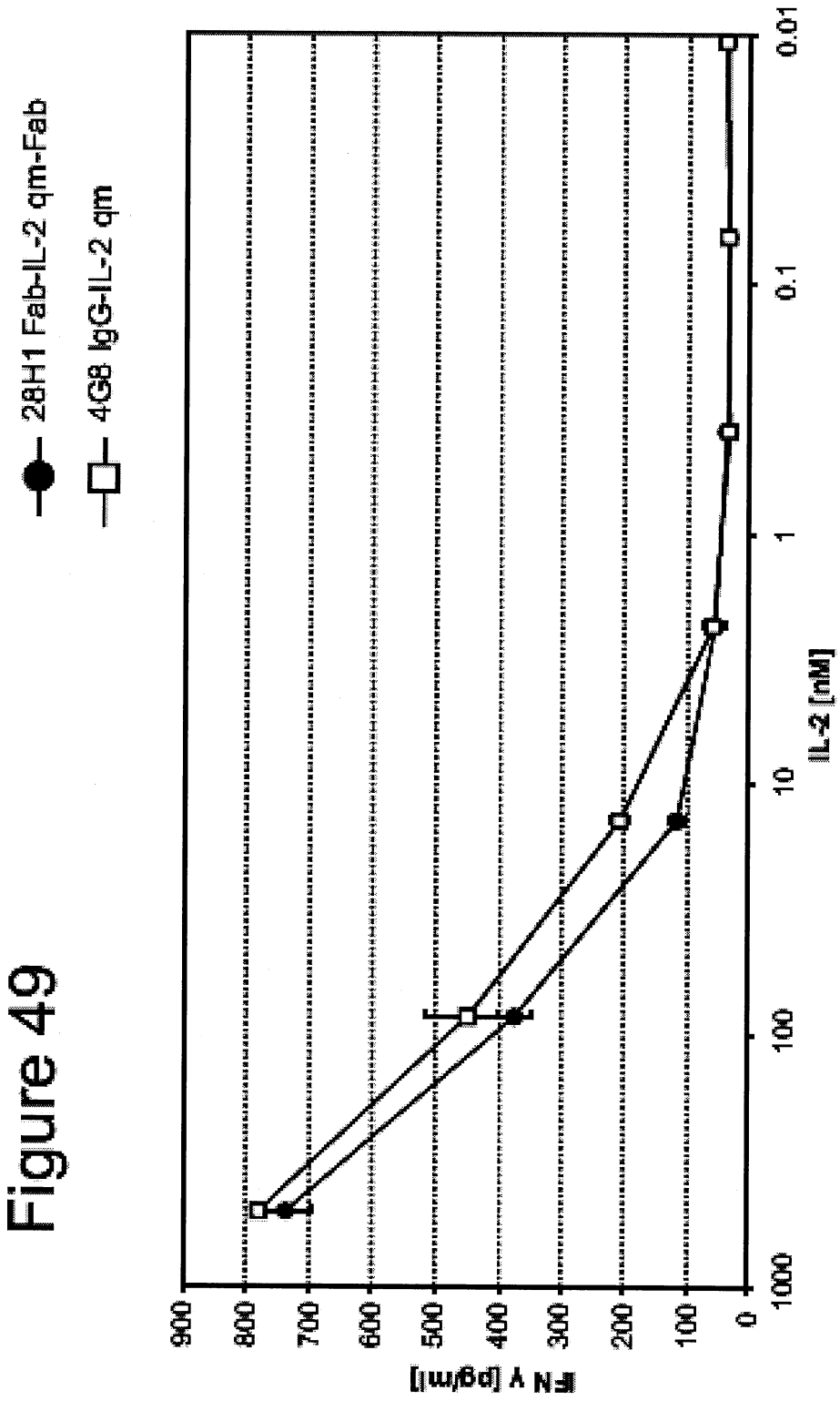
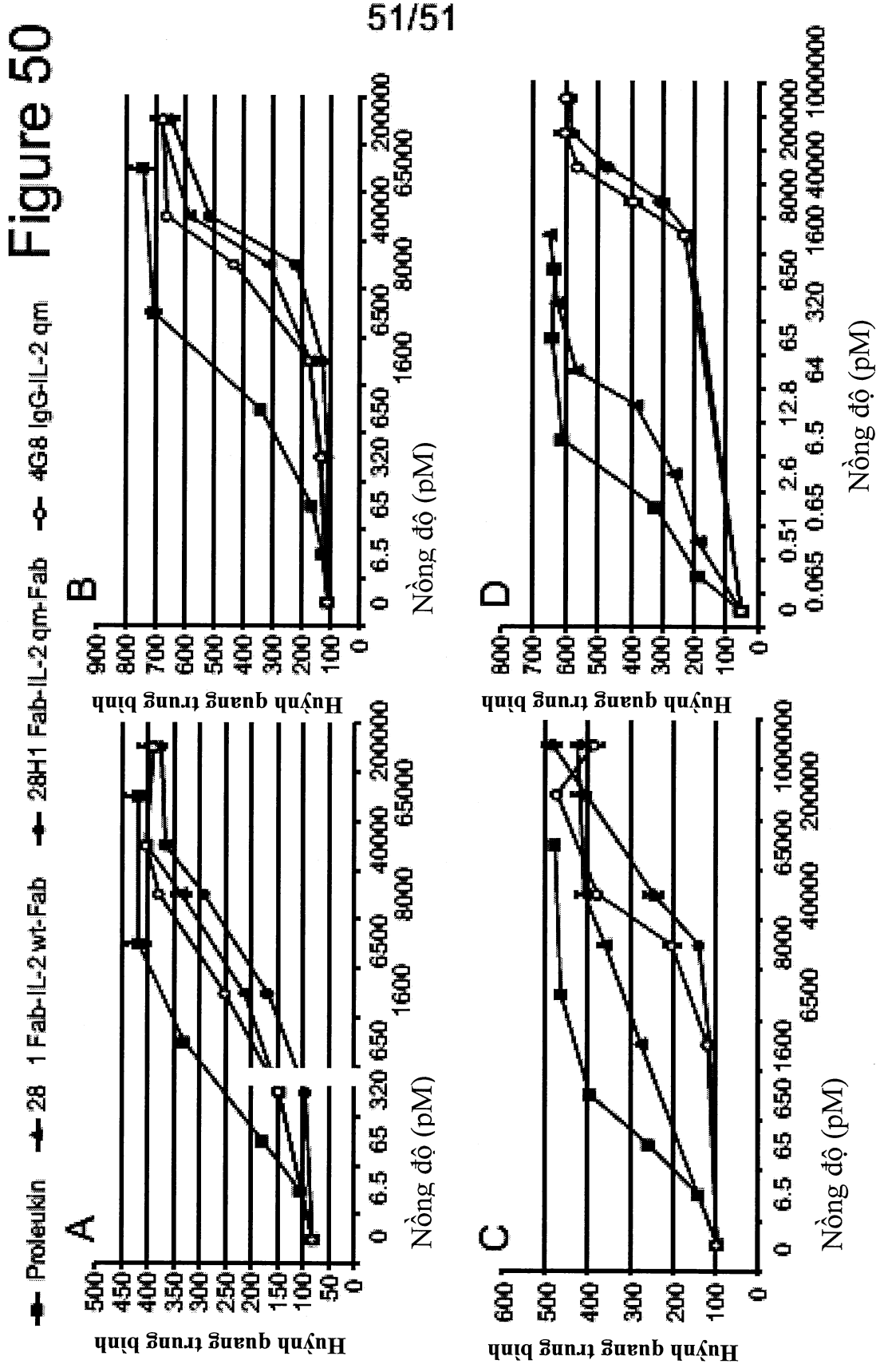

28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
IFN γ [pg/ml]
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
1000
100
10
1
0.1
0.01
IL-2 [nM]

Figure 50


Proleukin
28 1 Fab-IL-2 wt-Fab
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab
4G8 IgG-IL-2 qm
A
B
C
D
Huỳnh quang trung bình
Nồng độ (pM)

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Roche Glycart AG

<120> polypeptit Interleukin-2 đột biến

<130> 27307

<150> EP 11153964.9

<151> 2011-02-10

<150> EP 11164237.7

<151> 2011-04-29

<160> 324

<170> Patent phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1               5                  10                  15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            20                  25                  30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
        35                  40                  45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    50                  55                  60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65                  70                  75                  80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                85                  90                  95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            100                 105                 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
        115                 120                 125

Ile Ser Thr Leu Thr
    130
```

<210> 2
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 người dạng tự nhiên

<400> 2

gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgact 399

<210> 3
<211> 133
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 người dạng tự nhiên (C125A)

<400> 3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 4
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> IL-2 người dạng tự nhiên (C125A) (1)

<400> 4
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 5
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 người dạng tự nhiên (C125A) (2)

<400> 5
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 6
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 người dạng tự nhiên (C125A) (3)

<400> 6
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 7
<211> 133
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G (C125A)

<400> 7

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 8
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G (C125A) (1)

<400> 8
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 9
<211> 399

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G (C125A) (2)

<400> 9
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 10
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G (C125A) (3)

<400> 10
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 11
<211> 133
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G / F42A (C125A)

<400> 11

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 12
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến F42A / L72G (C125A) (1)

<400> 12
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 13
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến F42A / L72G (C125A) (2)

<400> 13
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 14
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến F42A / L72G (C125A) (3)

<400> 14
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 15
<211> 133
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 triple đột biến F42A / Y45A / L72G (C125A)

<400> 15

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 16
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 triple đột biến F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 16
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 17
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 triple đột biến F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

<400> 17
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 18
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 triple đột biến F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 18
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 19
<211> 133
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 quadruple đột biến T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A)

<400> 19

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 20
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 quadruple đột biến T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (1)

<400> 20
gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 21
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 quadruple đột biến T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (2)

<400> 21
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 22
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 quadruple đột biến T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 22
gctcctgcca gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 23
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10; VL

<400> 23

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 24
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10; VL

<400> 24
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10(GS); VL

<400> 25

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 26
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10(GS); VL

<400> 26
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 27
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10; VH

<400> 27

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10; VH

<400> 28
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 29
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11; VL

<400> 29

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

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

<210> 30

<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11; VL

<400> 30
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcgtccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11(VI); VL

<400> 31

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

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

<210> 32
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11(VI); VL

<400> 32
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 33
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11; VH

<400> 33

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11; VH

<400> 34
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac atggccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11(MT); VH

<400> 35

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11(MT); VH

<400> 36
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 37
<211> 108
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2; VL

<400> 37

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 38
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2; VL

<400> 38
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt atccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 39
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2(YS); VL

<400> 39

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser

```
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
                85                  90                  95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 40
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2(YS); VL

<400> 40
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 41
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2; VH

<400> 41

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2; VH

<400> 42
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 43
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9, VL

<400> 43

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

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

<210> 44
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9, VL

<400> 44
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9, VH

<400> 45

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

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

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

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 3D9, VH

<400> 46
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 47
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9(TA); VH

<400> 47

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9(TA); VH

<400> 48
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 49
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8; VL

<400> 49

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 50
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8; VL

<400> 50
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 51

<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8; VH

<400> 51

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8; VH

<400> 52
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 53
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 53

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Tyr Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 54
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 54
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 55
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3; VH

<400> 55

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 56
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3; VH

<400> 56
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 57
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4D6; VL

<400> 57

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Gln Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 58
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4D6; VL

<400> 58
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatccag ggcgcctcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 59
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4D6; VH

<400> 59

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4D6; VH

<400> 60
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 61
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 61

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
85 90 95

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

<210> 62
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 62
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 63
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C6; VH

<400> 63

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C6; VH

<400> 64
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatc cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggga gtgctggtta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 65
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H5; VL

<400> 65

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

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

<210> 66
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H5; VL

<400> 66
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 67
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H5; VH

<400> 67

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

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

Thr Met Ser Trp Val Arg Arg Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 68
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H5; VH

<400> 68
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatacca tgagctgggt ccgccggtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtg gtggtaggac atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggttggttt 300

acgccttttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C4; VL

<400> 69

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

```
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
                85                  90                  95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 70
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C4; VL

<400> 70

```
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc       60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agtaactact tagcctggta ccagcagaaa      120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcctcca ttagggccac tggcatccca      180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt      300

caggggacca aagtggaaat caaa                                             324
```

<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 71

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 72
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 73
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2D9; VL

<400> 73

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 74
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2D9; VL

<400> 74
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 75
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2D9; VH

<400> 75

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Thr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2D9; VH

<400> 76
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 77
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B8; VL

<400> 77

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 78
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B8; VL

<400> 78
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 79
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B8; VH

<400> 79

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B8; VH

<400> 80
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 81
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 81

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
85 90 95

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

<210> 82
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 82
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 83
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 7A1; VH

<400> 83

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 7A1; VH

<400> 84
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 85
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13C2; VL

<400> 85

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

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

<210> 86
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13C2; VL

<400> 86
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13C2; VH

<400> 87

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13C2; VH

<400> 88
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 89
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 89

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro
85 90 95

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

<210> 90

<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 90
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga atattccctc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 91
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13E8; VH

<400> 91

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 13E8; VH

<400> 92
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 93
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14C10; VL

<400> 93

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ile Ile Pro
85 90 95

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

<210> 94
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14C10; VL

<400> 94
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcata ttattccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 95
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14C10; VH

<400> 95

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ala Trp Met Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14C10; VH

<400> 96
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcttgg 300

atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 97
<211> 108
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 17A11; VL

<400> 97

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Leu Asn Ile Pro
85 90 95

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

<210> 98
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 17A11; VL

<400> 98
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga atattccctc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 99
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 17A11; VH

<400> 99

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 17A11; VH

<400> 100
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 101
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1; VL

<400> 101

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

```
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
                85                  90                  95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 102
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1; VL

<400> 102
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 103
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1; VH

<400> 103

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
```

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1; VH

<400> 104
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtggtggtct cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 105
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8; VL

<400> 105

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 106
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8; VL

<400> 106
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 107
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 107

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 108
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 108
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcaa tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggga gtggtagtcg tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 109
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9; VL

<400> 109

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 110
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9; VL

<400> 110
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 111
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9; VH

<400> 111

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 112
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9; VH

<400> 112
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtgctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 113
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5B8; VL

<400> 113

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 114
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5B8; VL

<400> 114
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 115
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5B8; VH

<400> 115

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

```
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Trp Gly Gly Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 116
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5B8; VH

<400> 116

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttggggtg gtggtcgtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg      300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c               351
```

<210> 117
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F1; VL

<400> 117

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 118
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F1; VL

<400> 118
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F1; VH

<400> 119

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F1; VH

<400> 120
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattagta gtggggctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 121
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3; VL

<400> 121

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 122
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3; VL

<400> 122

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 123
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3; VH

<400> 123

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 124
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3; VH

<400> 124
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attttggcta gtggtgcgat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 125
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F1; VL

<400> 125

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 126
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F1; VL

<400> 126
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 127
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 127

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 128
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 129
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F8; VL

<400> 129

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

```
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
            20                  25                  30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
                85                  90                  95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 130
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F8; VL

<400> 130

```
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc       60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa      120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca      180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc      300

caggggacca aagtggaaat caaa                                             324
```

<210> 131
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F8; VH

<400> 131

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Leu Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 132
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 16F8; VH

<400> 132
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 133
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O3C9; VL

<400> 133

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 134
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O3C9; VL

<400> 134
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 135
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O3C9; VH

<400> 135

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 136
<211> 351
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O3C9; VH

<400> 136
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttttgcca tgagctgggt ccgtcagtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 137
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O2D7; VL

<400> 137

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 138
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O2D7; VL

<400> 138
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcacccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggctatta tgcttcctcc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 139
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O2D7; VH

<400> 139

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 140
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O2D7; VH

<400> 140
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 141
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 28H1; VL

<400> 141

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 142
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 28H1; VL

<400> 142
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 143
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 143

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 144
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 144
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agtcatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttgggcta gtggggagca atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa agggtggctg 300

ggtaattttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 145
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 22A3; VL

<400> 145

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 146
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 22A3; VL

<400> 146
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 147
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 22A3; VH

<400> 147

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 148
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 22A3; VH

<400> 148
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 149
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11; VL

<400> 149

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

<210> 150
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11; VL

<400> 150
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 151
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11; VH

<400> 151

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 152
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11; VH

<400> 152
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 153
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 23C10; VL

<400> 153

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

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

<210> 154
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 23C10; VL

<400> 154
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 155
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 23C10; VH

<400> 155

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Thr Asn Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 156
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 23C10; VH

<400> 156
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttctgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 157
<211> 107

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 157

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 158
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 158
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 159
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 159

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 160
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 160

```
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc       60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc      120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac      180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac      240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac      300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc      360

tca                                                                    363
```

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 161

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
            20                  25                  30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
                85                  90                  95

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

<210> 162
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 162

```
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc       60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca      120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca      180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct      240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag      300

ggcaccaaag tcgagatcaa g                                                321
```

<210> 163
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6A12; VH

<400> 163

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 164
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6A12; VH

<400> 164
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3A6; VL

<400> 165

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 166
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3A6; VL

<400> 166
gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat tcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 167
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3A6; VH

<400> 167

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 168
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_C3A6; VH

<400> 168
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 169
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 169

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 170
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 170
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 171
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 171

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 172
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 172
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 173
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 173

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 174
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VL

<400> 174
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 175
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 175

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 176
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 176
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 177
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 177

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 178
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 178
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 179
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O7D8; VH

<400> 179

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O7D8; VH

<400> 180
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 181
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O1F7; VL

<400> 181

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 182
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O1F7; VL

<400> 182
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcctgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 183
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O1F7; VH

<400> 183

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 184
<211> 363
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_O1F7; VH

<400> 184
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 185
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6H10; VL

<400> 185

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

<210> 186
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6H10; VL

<400> 186
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatccaggct gctaccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 187
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6H10; VH

<400> 187

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 188
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10_6H10; VH

<400> 188
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 189
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 189

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

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

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 190
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 190
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagt 366

<210> 191
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV9; VL

<400> 191

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 192
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV9; VL

<400> 192
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 193
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 193

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

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

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 194
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 194

```
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct      120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga      180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg      240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca      300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc      360

tccagt                                                                 366
```

<210> 195
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV1; VL

<400> 195

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
```

```
            20                  25                  30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

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

<210> 196
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV1; VL

<400> 196

```
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc       60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca      120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca      180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct      240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga      300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg                                       330
```

<210> 197
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV7; VL

<400> 197

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

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

<210> 198
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV7; VL

<400> 198
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 199
<211> 603
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 199

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

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

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

```
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225                 230                 235                 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
                245                 250                 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
            260                 265                 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
        275                 280                 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
    290                 295                 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305                 310                 315                 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
                325                 330                 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
            340                 345                 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
        355                 360                 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
    370                 375                 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385                 390                 395                 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ser
                405                 410                 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
            420                 425                 430

Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
        435                 440                 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
    450                 455                 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
```

```
465                 470                 475                 480

Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                485                 490                 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
            500                 505                 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
        515                 520                 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
    530                 535                 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545                 550                 555                 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
                565                 570                 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
            580                 585                 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600
```

<210> 200
<211> 1809
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 200

```
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agtttttcga tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatct atttccggta gttcgggtac cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccgttt      300

ccgtattttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag      360

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc      420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc      480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac      600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac      660

tccggcggag gagggagcgg cggaggtggc tccggaggtg gcggagcacc tgcctcaagt      720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg      780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc      840
```

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggat ccggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagca gtttttcgat gagctgggtc 1260

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcatcta tttccggtag ttcgggtacc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaaccgtttc cgtattttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 201
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L19 chuỗi nhẹ

<400> 201

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Tyr Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Gly Arg Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 202
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L19 chuỗi nhẹ

<400> 202
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tatgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagacgggtc gtattcctcc gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 203
<211> 641
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

<400> 203

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

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

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
130 135 140

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
145 150 155 160

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

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
180 185 190

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
195 200 205

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
210 215 220

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
225 230 235 240

Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro
245 250 255

Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu
260 265 270

Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro
275 280 285

Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala
290 295 300

Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu
305 310 315 320

Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro
325 330 335

```
Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly
            340                 345                 350

Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile
        355                 360                 365

Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser
    370                 375                 380

Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
385                 390                 395                 400

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
                405                 410                 415

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
            420                 425                 430

Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
        435                 440                 445

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    450                 455                 460

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
465                 470                 475                 480

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
                485                 490                 495

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
            500                 505                 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Glu Val
        515                 520                 525

Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
    530                 535                 540

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met
545                 550                 555                 560

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
                565                 570                 575

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
            580                 585                 590

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
        595                 600                 605

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
    610                 615                 620

Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
625                 630                 635                 640

Ser
```

<210> 204
<211> 1923

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 scFv-IL2 qm-scFv

<400> 204
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagagg tggaggcggt 360

tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga tcgtctgagc tgactcagga ccctgctgtg 420

tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc acatgccaag gagacagcct cagaagctat 480

tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa 540

aacaaccggc cctcagggat cccagaccga ttctctggct ccagctcagg aaacacagct 600

tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa gatgaggctg actattactg taactcctct 660

gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc ggagggacca agctgaccgt cctaggctct 720

tcctcatcgg gtagtagctc ttccggctca tcgtcctccg gagcacctgc ctcaagttct 780

acaaagaaaa cacagctaca actggagcat ttactgctgg atttacagat gattttgaat 840

ggaattaata attacaagaa tcccaaactc accaggatgc tcacagccaa gtttgccatg 900

cccaagaagg ccacagaact gaaacatctt cagtgtctag aagaagaact caaacctctg 960

gaggaagtgc taaatggcgc tcaaagcaaa aactttcact taagacccag ggacttaatc 1020

agcaatatca acgtaatagt tctggaacta aagggatctg aaacaacatt catgtgtgaa 1080

tatgctgatg agacagcaac cattgtagaa tttctgaaca gatggattac ctttgcccaa 1140

agcatcatct caacactgac ttccggcgga ggagggagcg gcggaggtgg ctctggcggt 1200

ggcggatcgt ctgagctcac tcaggaccct gctgtgtctg tggccttggg acagacagtc 1260

aggatcacat gccaaggaga cagcctcaga agctattatg caagctggta ccagcagaag 1320

ccaggacagg cccctgtact tgtcatctat ggtaaaaaca accggccctc agggatccca 1380

gaccgattct ctggctccag ctcaggaaac acagcttcct tgaccatcac tggggctcag 1440

gcggaagatg aggctgacta ttactgtaac tcctctgttt atactatgcc gcccgtggta 1500

ttcggcggag ggaccaagct taccgtacta ggctcaggag gcggttcagg cggaggttct 1560

ggcggcggta gcggatcgga ggtgcagctg ttggagtctg ggggaggctt ggtacagcct 1620

ggggggtccc tgagactctc ctgtgcagcc tctggattca cctttagccg gtatggtatg 1680

agctgggtcc gccaggctcc agggaagggg ctggagtggg tctcagctat tagtggtagt 1740

ggtggtagca catactacgc agactccgtg aagggccggt tcaccatctc cagagacaat 1800

tccaagaaca cgctgtatct gcaaatgaac agcctgagag ccgaggacac ggccgtatat 1860

tactgtgcga aagcgcataa tgcttttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtg 1920

tcg 1923

<210> 205
<211> 603
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 205

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

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

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Ser Ser Ser
210 215 220

Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

```
Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
                245                 250                 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
            260                 265                 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
        275                 280                 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
    290                 295                 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305                 310                 315                 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
                325                 330                 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
            340                 345                 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
        355                 360                 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
    370                 375                 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385                 390                 395                 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly
                405                 410                 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
            420                 425                 430

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
        435                 440                 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
    450                 455                 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
465                 470                 475                 480

Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                485                 490                 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
            500                 505                 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
        515                 520                 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
    530                 535                 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545                 550                 555                 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
                565                 570                 575
```

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 206
<211> 1809
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 206
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagtgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

tcttcctcat cgggtagtag ctcttccggc tcatcgtcct ccggagcacc tgcctcaagt 720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggga gcggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcaatt gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagcc ggtatggtat gagctgggtc 1260

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcagcta ttagtggtag tggtggtagc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaagcgcata atgcttttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt gtcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 207
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 chuỗi nhẹ

<400> 207

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met Pro Pro
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 208
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F16 chuỗi nhẹ

<400> 208
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60

acatgccaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120

caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180

ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gatgaggctg actattactg taactcctct gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc 300

ggagggacca agctgaccgt cctaggtcaa cccaaggctg cccccagcgt gaccctgttc 360

ccccccagca gcgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tggtctgcct gatcagcgac 420

ttctacccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 480

gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 540

agcctgaccc ccgagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccaggt gacccacgag 600

ggcagcaccg tggagaaaac cgtggccccc accgagtgca gc 642

<210> 209
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 209

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

```
Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
```

```
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605
```

<210> 210
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 210

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg      300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc      360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt      660
```

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggtttggtgg ttttaactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 211
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 211

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

```
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415
```

```
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605
```

<210> 212
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 212

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg      300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc      360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      540
```

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 213
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 213

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

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

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

```
Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380
```

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605
```

<210> 214
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 214

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg      300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc      360
```

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc tatgagctgg 1260

gtccgccaga ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattggtgt tagtactggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaaggtt ggctgggtcc ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 215
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 215

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
```

355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 216
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 216
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acaccgccgt atattactgt 1440

gcgaaatgga gatggatgat gtttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 217
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 217

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

```
Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605


<210>  218
<211>  1815
<212>  ADN
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  4B3 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400>  218
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60
```

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 219
<211> 603
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 28H1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 219

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

```
Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305                 310                 315                 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
                325                 330                 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
            340                 345                 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
        355                 360                 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
    370                 375                 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385                 390                 395                 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
                405                 410                 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
            420                 425                 430

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
        435                 440                 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
    450                 455                 460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
465                 470                 475                 480

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                485                 490                 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
            500                 505                 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
        515                 520                 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
    530                 535                 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545                 550                 555                 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
                565                 570                 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
            580                 585                 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600
```

<210> 220
<211> 1809
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 28H1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 220

gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggaccctccg tgttccccct ggcccctcc agcaagtcta cctctggcgg caccgccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 480

gccctgacca gcggcgtcca cacctttcca gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc 540

ctgtcctccg tcgtgaccgt gccctccagc tctctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agccctccaa caccaaggtg gacaagaagg tggaacccaa gtcctgcgac 660

agtggtgggg gaggatctgg tggcggaggt tctggcggag gtggcgctcc tgcctcctcc 720

agcaccaaga aaacccagct ccagctggaa catctcctgc tggatctgca gatgatcctg 780

aacggcatca acaactacaa gaaccccaag ctgacccgga tgctgaccgc caagttcgcc 840

atgcccaaga aggccaccga gctgaaacat ctgcagtgcc tggaagagga actgaagcct 900

ctggaagagg tgctgaacgg cgcccagtcc aagaacttcc acctgaggcc tcgggacctg 960

atctccaaca tcaacgtgat cgtgctggaa ctgaagggct ccgagacaac cttcatgtgc 1020

gagtacgccg acgagacagc taccatcgtg gaatttctga accggtggat caccttcgcc 1080

cagtccatca tctccaccct gacctccggt ggtggcggat ccgggggagg gggttctggc 1140

ggaggcggag aagtgcagct gctggaatcc ggcggaggcc tggtgcagcc tggcggatct 1200

ctgagactgt cctgcgccgc ctccggcttc accttctcct cccacgccat gtcctgggtc 1260

cgacaggctc caggcaaggg cctggaatgg gtgtccgcca tctgggcctc cggcgagcag 1320

tactacgccg actctgtgaa gggccggttc accatctccc gggacaactc caagaacacc 1380

ctgtacctgc agatgaactc cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgtgccaag 1440

ggctggctgg gcaacttcga ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctccgcc 1500

tctaccaagg gcccctccgt gttccctctg gcccccctcca gcaagtctac ctctggcggc 1560

accgccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 1620

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gtcctccggc 1680

ctgtactccc tgtcctccgt cgtgaccgtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaggtgg acaagaaggt ggaacccaag 1800

tcctgcgac 1809

<210> 221
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 221

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu

```
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605
```

<210> 222

<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 29B11 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 222
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ccggcggcat cacctactac 180

gccgactctg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc caagggctgg 300

ttcggaggct tcaactactg gggacagggc accctggtca ccgtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccct ccgtgttccc cctggccccc tccagcaagt ctacctctgg cggcaccgcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 480

ggcgccctga ccagcggcgt ccacaccttt ccagccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac 540

tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagtcctgc 660

gacagtggtg ggggaggatc tggtggcgga ggttctggcg gaggtggcgc tcctgcctcc 720

tccagcacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctcc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgagctgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag tccaagaact tccacctgag gcctcgggac 960

ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gctccgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagtcca tcatctccac cctgacctcc ggtggtggcg gatccggggg aggggttct 1140

ggcggaggcg gagaagtgca gctgctggaa tccggcggag gcctggtgca gcctggcgga 1200

tctctgagac tgtcctgcgc cgcctccggc ttcaccttct cctcctatgc catgtcctgg 1260

gtccgacagg ctccaggcaa gggcctggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctccggcggc 1320

atcacctact acgccgactc tgtgaagggc cggttcacca tctcccggga caactccaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaactccctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgt 1440

gccaagggct ggttcggagg cttcaactac tggggccagg gcaccctggt caccgtgtcc 1500

tccgcctcta ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cctccagcaa gtctacctct 1560

ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagtcc 1680

tccggcctgt actccctgtc ctccgtcgtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagtcct gcgac 1815

<210> 223
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 223

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

```
Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590
```

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 224
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 19G1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 224
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcagct ctggcggcct gacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcag ctctggcggc 1320

ctgacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 225
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 225

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
```

565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 226
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 20G8 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 226
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcagccg gacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcagc 1320

cggacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 227
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 227

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540
```

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 228
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B9 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 228
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcgcc 1320

agcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 229
<211> 605
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 229

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225                 230                 235                 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
                245                 250                 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
            260                 265                 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
        275                 280                 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305                 310                 315                 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
                325                 330                 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
            340                 345                 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
        355                 360                 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385                 390                 395                 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                405                 410                 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
            420                 425                 430

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
        435                 440                 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
    450                 455                 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                485                 490                 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            500                 505                 510
```

```
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        515                 520                 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545                 550                 555                 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                565                 570                 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
            580                 585                 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        595                 600                 605
```

<210> 230
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 14B3 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 230

```
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg       60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc      120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcctggcct ctggcgccat cacctactac      180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac      240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg      300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc      360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc      420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc      480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac      540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc      600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc      660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc      720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc      780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc      840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag      900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac      960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg     1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc     1080
```

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcctggc ctctggcgcc 1320

atcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 231
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2 chuỗi nhẹ

<400> 231

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

```
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 232
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3F2 chuỗi nhẹ

<400> 232
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120

cccggccagg cccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct 180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggcatca tgctgccccc caccttggc 300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 233
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8 chuỗi nhẹ

<400> 233

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
            20                  25                  30
```

```
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
                85                  90                  95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 234
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4G8 chuỗi nhẹ

<400> 234

```
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc      60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgtcc cggtcctacc tcgcctggta tcagcagaag     120

cccggccagg cccctcggct gctgatcatc ggcgcctcta ccagagccac cggcatccct     180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa     240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggccagg tcatccctcc cacctttggc     300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca     360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc     420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc      480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg     540
```

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 235
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3D9 chuỗi nhẹ

<400> 235

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Leu Ile Pro
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 236
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 3D9 chuỗi nhẹ

<400> 236
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 237
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11 chuỗi nhẹ

<400> 237

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 238
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2F11 chuỗi nhẹ

<400> 238
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 239
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3 chuỗi nhẹ

<400> 239

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

```
        35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Tyr Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
                85                  90                  95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 240
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4B3 chuỗi nhẹ

<400> 240

```
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc       60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa      120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca      180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc      300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg      360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc      480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg      540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag      600
```

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 241
<211> 613
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 241

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

```
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
        275                 280                 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    290                 295                 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305                 310                 315                 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                325                 330                 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            340                 345                 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
        355                 360                 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385                 390                 395                 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
                405                 410                 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr
        435                 440                 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
    450                 455                 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465                 470                 475                 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
                485                 490                 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
            500                 505                 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
        515                 520                 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
    530                 535                 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545                 550                 555                 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
                565                 570                 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
            580                 585                 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
        595                 600                 605
```

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 242
<211> 1839
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 242
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agggatcatc 1320

cctatctttg gtacagcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 243
<211> 613
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> C3B6 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 243

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

```
Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
                245                 250                 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
        275                 280                 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    290                 295                 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305                 310                 315                 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                325                 330                 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            340                 345                 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
        355                 360                 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385                 390                 395                 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
                405                 410                 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr
        435                 440                 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
    450                 455                 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465                 470                 475                 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
                485                 490                 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
            500                 505                 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
        515                 520                 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
    530                 535                 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545                 550                 555                 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
```

565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 244
<211> 1839
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> C3B6 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 244
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agctatcatc 1320

ccgatccttg gtatcgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 245
<211> 613
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 245

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

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

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

```
            180                 185                 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
                245                 250                 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
        275                 280                 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
    290                 295                 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305                 310                 315                 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
                325                 330                 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
            340                 345                 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
        355                 360                 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385                 390                 395                 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
                405                 410                 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Leu Glu Trp Met Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr
        435                 440                 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
    450                 455                 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465                 470                 475                 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
                485                 490                 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
            500                 505                 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
        515                 520                 525
```

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 246
<211> 1839
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 6A12 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 246
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctat 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agtgatcatc 1320

cctatccttg gtaccgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 247
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10 chuỗi nhẹ

<400> 247

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 248
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2B10 chuỗi nhẹ

<400> 248
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 249
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> D1A2 chuỗi nhẹ

<400> 249

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 250
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> D1A2 chuỗi nhẹ

<400> 250
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 251
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O7D8 chuỗi nhẹ

<400> 251

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Val
20 25 30

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

Tyr Asp Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 252
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> O7D8 chuỗi nhẹ

<400> 252
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 253
<211> 615
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 253

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

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

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

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

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
                245                 250                 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
            260                 265                 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro
        275                 280                 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
    290                 295                 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305                 310                 315                 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
                325                 330                 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
            340                 345                 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
        355                 360                 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385                 390                 395                 400

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
                405                 410                 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
            420                 425                 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly
        435                 440                 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    450                 455                 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465                 470                 475                 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
```

```
                485                 490                 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
            500                 505                 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
        515                 520                 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
    530                 535                 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545                 550                 555                 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
            580                 585                 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
        595                 600                 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    610                 615
```

<210> 254
<211> 1845
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG1 Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 254

```
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc      60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct     120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga     180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg     240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca     300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc     360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccccctgg caccctcctc caagagcacc     420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg     480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag     540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc     600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt     660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc     720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg     780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg     840
```

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtcaagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 255
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV9 chuỗi nhẹ

<400> 255

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

```
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 256
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV9 chuỗi nhẹ

<400> 256
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 257
<211> 615
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 257

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

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

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
            100                 105                 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

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

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
                245                 250                 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
            260                 265                 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro
        275                 280                 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
    290                 295                 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305                 310                 315                 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
                325                 330                 335
```

```
Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
            340                 345                 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
        355                 360                 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385                 390                 395                 400

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
                405                 410                 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
            420                 425                 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly
        435                 440                 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    450                 455                 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465                 470                 475                 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
                485                 490                 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
            500                 505                 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
        515                 520                 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
    530                 535                 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545                 550                 555                 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
            580                 585                 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
        595                 600                 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    610                 615
```

<210> 258
<211> 1845
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MHLG Fab-IL2 qm-Fab (chuỗi nặng xytokin tiếp hợp cấu trúc)

<400> 258

gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 840

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtccagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 259

<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV1 chuỗi nhẹ

<400> 259

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 260
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV1 chuỗi nhẹ

<400> 260
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 261
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV7 chuỗi nhẹ

<400> 261

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 262
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KV7 chuỗi nhẹ

<400> 262
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 263
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 263

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 264
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 264
atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 265
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 265
atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 266
<211> 22
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 266

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

<210> 267
<211> 66
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 267
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60

aggtgt 66

<210> 268
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 268

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 269
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 269
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattcc 57

<210> 270
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 270
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg ccactggagt gcattcc 57

<210> 271
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 271
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct 57

<210> 272
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 272

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser
20

<210> 273
<211> 60
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự dẫn đầu

<400> 273
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

<210> 274
<211> 466
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-beta-Fc(lỗ khóa) người

<400> 274

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys
20 25 30

Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly
35 40 45

Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg
50 55 60

Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp
65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr
85 90 95

Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp
100 105 110

Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu
115 120 125

Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys
130 135 140

Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His
145 150 155 160

Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu
165 170 175

Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu
180 185 190

Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro
195 200 205

Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala
210 215 220

Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

```
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    290                 295                 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305                 310                 315                 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                325                 330                 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
            340                 345                 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
        355                 360                 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
    370                 375                 380

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385                 390                 395                 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
                405                 410                 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
            420                 425                 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
        435                 440                 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
    450                 455                 460

Gly Lys
465
```

<210> 275
<211> 1401
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-beta-Fc(lỗ khóa) người

<400> 275

```
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc       60

aggtgtgcgg tgaatggcac ttcccagttc acatgcttct acaactcgag agccaacatc      120

tcctgtgtct ggagccaaga tggggctctg caggacactt cctgccaagt ccatgcctgg      180

ccggacagac ggcggtggaa ccaaacctgt gagctgctcc ccgtgagtca agcatcctgg      240

gcctgcaacc tgatcctcgg agccccagat tctcagaaac tgaccacagt tgacatcgtc      300

accctgaggg tgctgtgccg tgaggggtg cgatggaggg tgatggccat ccaggacttc      360

aagccctttg agaaccttcg cctgatggcc cccatctccc tccaagttgt ccacgtggag      420

acccacagat gcaacataag ctgggaaatc tcccaagcct cccactactt tgaaagacac      480

ctggagttcg aggcccggac gctgtcccca ggccacacct gggaggaggc ccccctgctg      540
```

actctcaagc agaagcagga atggatctgc ctggagacgc tcaccccaga cacccagtat 600

gagtttcagg tgcgggtcaa gcctctgcaa ggcgagttca cgacctggag cccctggagc 660

cagcccctgg ccttcagaac aaagcctgca gcccttggga aggacaccgg agctcaggac 720

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tgggggggacc gtcagtcttc 780

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1140

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380

tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 276
<211> 492
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-gamma-Fc(chìa khóa) người

<400> 276

Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu
1 5 10 15

Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly
20 25 30

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn
85 90 95

Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr
100 105 110

Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe

```
        115                 120                 125

Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln
    130                 135                 140

Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu
145                 150                 155                 160

Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn
                165                 170                 175

Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp
            180                 185                 190

Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe
        195                 200                 205

Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg
    210                 215                 220

Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp
225                 230                 235                 240

Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe
                245                 250                 255

Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            260                 265                 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        275                 280                 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    290                 295                 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305                 310                 315                 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                325                 330                 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
            340                 345                 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        355                 360                 365

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    370                 375                 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
385                 390                 395                 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
                405                 410                 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            420                 425                 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        435                 440                 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
    450                 455                 460
```

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 277
<211> 1479
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-gamma-Fc(chìa khóa) người

<400> 277
atgttgaagc catcattacc attcacatcc ctcttattcc tgcagctgcc cctgctggga 60

gtggggctga acacgacaat tctgacgccc aatgggaatg aagacaccac agctgatttc 120

ttcctgacca ctatgcccac tgactccctc agtgtttcca ctctgcccct cccagaggtt 180

cagtgttttg tgttcaatgt cgagtacatg aattgcactt ggaacagcag ctctgagccc 240

cagcctacca acctcactct gcattattgg tacaagaact cggataatga taaagtccag 300

aagtgcagcc actatctatt ctctgaagaa atcacttctg gctgtcagtt gcaaaaaaag 360

gagatccacc tctaccaaac atttgttgtt cagctccagg acccacggga acccaggaga 420

caggccacac agatgctaaa actgcagaat ctggtgatcc cctgggctcc agagaaccta 480

acacttcaca aactgagtga atcccagcta gaactgaact ggaacaacag attcttgaac 540

cactgtttgg agcacttggt gcagtaccgg actgactggg accacagctg gactgaacaa 600

tcagtggatt atagacataa gttctccttg cctagtgtgg atgggcagaa acgctacacg 660

tttcgtgttc ggagccgctt taacccactc tgtggaagtg ctcagcattg gagtgaatgg 720

agccacccaa tccactgggg gagcaatact tcaaaagaga atcctttcct gtttgcattg 780

gaagccggag ctcaggacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 840

gggggaccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 900

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggtgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1260

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1320

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1380

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1440

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 1479

<210> 278
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đơn vị con IL-2R alpha người + Avi-tag + His-tag

<400> 278

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala
20 25 30

Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu
35 40 45

Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu
50 55 60

Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys
65 70 75 80

Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro
85 90 95

Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln
100 105 110

Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro
115 120 125

Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln
130 135 140

Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly
145 150 155 160

Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr
165 170 175

Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln
180 185 190

Gly Gly Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp
195 200 205

His Glu Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 279
<211> 660
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đơn vị con IL-2R alpha người + Avi-tag + His-tag

<400> 279
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60

ctctgtgacg atgacccgcc agagatccca cacgccacat tcaaagccat ggcctacaag 120

gaaggaacca tgttgaactg tgaatgcaag agaggtttcc gcagaataaa aagcgggtca 180

ctctatatgc tctgtacagg aaactctagc cactcgtcct gggacaacca atgtcaatgc 240

acaagctctg ccactcggaa cacaacgaaa caagtgacac ctcaacctga agaacagaaa 300

gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca atgcagccag tggaccaagc gagccttcca 360

ggtcactgca gggaacctcc accatgggaa aatgaagcca cagagagaat ttatcatttc 420

gtggtggggc agatggttta ttatcagtgc gtccagggat acagggctct acacagaggt 480

cctgctgaga gcgtctgcaa aatgacccac gggaagacaa ggtggaccca gccccagctc 540

atatgcacag gtgtcgacga acagttatat tttcagggcg gctcaggcct gaacgacatc 600

ttcgaggccc agaagatcga gtggcacgag gctcgagctc accaccatca ccatcactga 660

<210> 280
<211> 473
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-beta-Fc(lỗ khóa) chuột

<400> 280

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Lys
20 25 30

Asn Cys Ser His Leu Glu Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Val Ser
35 40 45

Cys Met Trp Ser His Glu Glu Ala Leu Asn Val Thr Thr Cys His Val
50 55 60

His Ala Lys Ser Asn Leu Arg His Trp Asn Lys Thr Cys Glu Leu Thr
65 70 75 80

Leu Val Arg Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ser Phe
85 90 95

Pro Glu Ser Gln Ser Leu Thr Ser Val Asp Leu Leu Asp Ile Asn Val
100 105 110

Val Cys Trp Glu Glu Lys Gly Trp Arg Arg Val Lys Thr Cys Asp Phe
115 120 125

His Pro Phe Asp Asn Leu Arg Leu Val Ala Pro His Ser Leu Gln Val
130 135 140

Leu His Ile Asp Thr Gln Arg Cys Asn Ile Ser Trp Lys Val Ser Gln
145 150 155 160

```
Val Ser His Tyr Ile Glu Pro Tyr Leu Glu Phe Glu Ala Arg Arg Arg
                165                 170                 175

Leu Leu Gly His Ser Trp Glu Asp Ala Ser Val Leu Ser Leu Lys Gln
            180                 185                 190

Arg Gln Gln Trp Leu Phe Leu Glu Met Leu Ile Pro Ser Thr Ser Tyr
        195                 200                 205

Glu Val Gln Val Arg Val Lys Ala Gln Arg Asn Asn Thr Gly Thr Trp
    210                 215                 220

Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Thr Phe Arg Thr Arg Pro Ala Asp Pro
225                 230                 235                 240

Met Lys Glu Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
                245                 250                 255

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

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

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

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

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

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

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
        355                 360                 365

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

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385                 390                 395                 400

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470
```

<210> 281
<211> 1422

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein tiếp hợp IL-2R-beta-Fc(lỗ khóa) chuột

<400> 281
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt ccccctcctg 60

ctgctctggt tcccaggtgc caggtgtgca gtgaaaaact gttcccatct tgaatgcttc 120

tacaactcaa gagccaatgt ctcttgcatg tggagccatg aagaggctct gaatgtcaca 180

acctgccacg tccatgccaa gtcgaacctg cgacactgga acaaaacctg tgagctaact 240

cttgtgaggc aggcatcctg ggcctgcaac ctgatcctcg ggtcgttccc agagtcccag 300

tcactgacct ccgtggacct ccttgacata aatgtggtgt gctgggaaga gaagggttgg 360

cgtagggtaa agacctgcga cttccatccc tttgacaacc ttcgcctggt ggcccctcat 420

tccctccaag ttctgcacat tgatacccag agatgtaaca taagctggaa ggtctcccag 480

gtctctcact acattgaacc atacttggaa tttgaggccc gtagacgtct tctgggccac 540

agctgggagg atgcatccgt attaagcctc aagcagagac agcagtggct cttcttggag 600

atgctgatcc ctagtacctc atatgaggtc caggtgaggg tcaaagctca acgaaacaat 660

accgggacct ggagtccctg gagccagccc ctgacctttc ggacaaggcc agcagatccc 720

atgaaggagg gagctcagga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 780

ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 840

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 900

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 960

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1020

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtgcaccct gcccccatcc 1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctctcgtgcg cagtcaaagg cttctatccc 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctcgtga gcaagctcac cgtggacaag 1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1380

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

<210> 282
<211> 500
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuột IL-2R-gamma-Fc(chìa khóa) tiếp hợp protein

<400> 282

```
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                  10                  15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Trp Ser Ser
            20                  25                  30

Lys Val Leu Met Ser Ser Ala Asn Glu Asp Ile Lys Ala Asp Leu Ile
        35                  40                  45

Leu Thr Ser Thr Ala Pro Glu His Leu Ser Ala Pro Thr Leu Pro Leu
    50                  55                  60

Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Ile Glu Tyr Met Asn Cys Thr
65                  70                  75                  80

Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Ala Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr
                85                  90                  95

Arg Tyr Lys Val Ser Asp Asn Asn Thr Phe Gln Glu Cys Ser His Tyr
            100                 105                 110

Leu Phe Ser Lys Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Ile Gln Lys Glu Asp
        115                 120                 125

Ile Gln Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Gln Lys
    130                 135                 140

Pro Gln Arg Arg Ala Val Gln Lys Leu Asn Leu Gln Asn Leu Val Ile
145                 150                 155                 160

Pro Arg Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Ser Asn Leu Ser Glu Ser Gln
                165                 170                 175

Leu Glu Leu Arg Trp Lys Ser Arg His Ile Lys Glu Arg Cys Leu Gln
            180                 185                 190

Tyr Leu Val Gln Tyr Arg Ser Asn Arg Asp Arg Ser Trp Thr Glu Leu
        195                 200                 205

Ile Val Asn His Glu Pro Arg Phe Ser Leu Pro Ser Val Asp Glu Leu
    210                 215                 220

Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Tyr Asn Pro Ile Cys Gly
225                 230                 235                 240

Ser Ser Gln Gln Trp Ser Lys Trp Ser Gln Pro Val His Trp Gly Ser
                245                 250                 255

His Thr Val Glu Glu Asn Pro Ser Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala
            260                 265                 270

Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
        275                 280                 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
    290                 295                 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305                 310                 315                 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
                325                 330                 335
```

```
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
            340                 345                 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
        355                 360                 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
    370                 375                 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385                 390                 395                 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
                405                 410                 415

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
            420                 425                 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
        435                 440                 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
    450                 455                 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465                 470                 475                 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
                485                 490                 495

Ser Pro Gly Lys
            500
```

<210> 283
<211> 1503
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuột IL-2R-gamma-Fc(chìa khóa) tiếp hợp protein

<400> 283

```
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt ccccctcctg      60

ctgctctggt tcccaggtgc caggtgttgg agttccaagg tcctcatgtc cagtgcgaat     120

gaagacatca aagctgattt gatcctgact tctacagccc ctgaacacct cagtgctcct     180

actctgcccc ttccagaggt tcagtgcttt gtgttcaaca tagagtacat gaattgcact     240

tggaatagca gttctgagcc tcaggcaacc aacctcacgc tgcactatag gtacaaggta     300

tctgataata atacattcca ggagtgcagt cactatttgt tctccaaaga gattacttct     360

ggctgtcaga tacaaaaaga agatatccag ctctaccaga catttgttgt ccagctccag     420

gacccccaga aaccccagag gcgagctgta cagaagctaa acctacagaa tcttgtgatc     480

ccacgggctc cagaaaatct aacactcagc aatctgagtg aatcccagct agagctgaga     540

tggaaaagca gacatattaa agaacgctgt ttacaatact tggtgcagta ccggagcaac     600
```

agagatcgaa gctggacgga actaatagtg aatcatgaac ctagattctc cctgcctagt 660

gtggatgagc tgaaacggta cacatttcgg gttcggagcc gctataaccc aatctgtgga 720

agttctcaac agtggagtaa atggagccag cctgtccact gggggagtca tactgtagag 780

gagaatcctt ccttgtttgc actggaagct ggagctcagg acaaaactca cacatgccca 840

ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc 900

aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 960

cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 1020

aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1080

gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 1140

ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1200

gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc 1260

ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1320

gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt cttcctctac 1380

agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1440

atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1500

tga 1503

<210> 284
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuột IL-2R alpha đơn vị con + Avi-tag + His-tag

<400> 284

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala
20 25 30

Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu
35 40 45

Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys
50 55 60

Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His
65 70 75 80

Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu
85 90 95

Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln
100 105 110

```
Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu
        115                 120                 125

Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr
    130                 135                 140

Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser
145                 150                 155                 160

Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu
                165                 170                 175

Thr Cys Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Gly Leu Asn
            180                 185                 190

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Ala Arg Ala His
        195                 200                 205

His His His His His
    210
```

<210> 285
<211> 642
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuột IL-2R alpha đơn vị con + Avi-tag + His-tag

<400> 285

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgaa       60

ctgtgtctgt atgacccacc cgaggtcccc aatgccacat tcaaagccct ctcctacaag      120

aacggcacca tcctaaactg tgaatgcaag agaggtttcc gaagactaaa ggaattggtc      180

tatatgcgtt gcttaggaaa ctcctggagc agcaactgcc agtgcaccag caactcccat      240

gacaaatcga gaaagcaagt tacagctcaa cttgaacacc agaaagagca acaaaccaca      300

acagacatgc agaagccaac acagtctatg caccaagaga accttacagg tcactgcagg      360

gagccacctc cttggaaaca tgaagattcc aagagaatct atcatttcgt ggaaggacag      420

agtgttcact acgagtgtat tccgggatac aaggctctac agagaggtcc tgctattagc      480

atctgcaaga tgaagtgtgg gaaaacgggg tggactcagc cccagctcac atgtgtcgac      540

gaacagttat attttcaggg cggctcaggc ctgaacgaca tcttcgaggc ccagaagatc      600

gagtggcacg aggctcgagc tcaccaccat caccatcact ga                         642
```

<210> 286
<211> 480
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R-beta-Fc(chìa khóa) tiếp hợp protein + Avi-tag

<400> 286

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Val His Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Arg Phe Thr Cys Phe Tyr Asn
            20                  25                  30

Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln
        35                  40                  45

Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn
    50                  55                  60

Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn
65                  70                  75                  80

Leu Ile Leu Gly Thr Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Ala Val Asp Ile
                85                  90                  95

Val Thr Leu Arg Val Met Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp Arg Met Met
            100                 105                 110

Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro
        115                 120                 125

Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser
    130                 135                 140

Trp Lys Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe
145                 150                 155                 160

Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu
                165                 170                 175

Met Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr
            180                 185                 190

Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly
        195                 200                 205

Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr
    210                 215                 220

Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp Lys Thr His
225                 230                 235                 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
                245                 250                 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
            260                 265                 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
        275                 280                 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
    290                 295                 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305                 310                 315                 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
                325                 330                 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
```

340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
450 455 460

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
465 470 475 480

<210> 287
<211> 1443
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R-beta-Fc(chìa khóa) tiếp hợp protein + Avi-tag

<400> 287
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgcg 60

gtcaacggca cttcccggtt cacatgcttc tacaactcga gagccaacat ctcctgtgtc 120

tggagccaag atggggctct gcaggacact tcctgccaag tccacgcctg gccggacaga 180

cggcggtgga accaaacctg tgagctgctc cctgtgagtc aagcatcctg ggcctgcaac 240

ctgatcctcg gaaccccaga ttctcagaaa ctgaccgcag tggatatcgt caccctgagg 300

gtgatgtgcc gtgaaggggt gcgatggagg atgatggcca tccaggactt caaacccttt 360

gagaaccttc gcctgatggc ccccatctcc ctccaagtcg tccacgtgga gacccacaga 420

tgcaacataa gctggaaaat ctcccaagcc tcccactact ttgaaagaca cctggagttt 480

gaggcccgga cgctgtcccc aggccacacc tgggaggagg ccccccctgat gaccctcaag 540

cagaagcagg aatggatctg cctggagacg ctcaccccag acacccagta tgagtttcag 600

gtgcgggtca agcctctgca aggcgagttc acgacctgga gcccctggag ccagcccctg 660

gccttcagga caaagcctgc agcccttggg aaggacaccg gagctcagga caaaactcac 720

acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 780

ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg 840

gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960

gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020

aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacaccct gcccccatgc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgtggtgcc tggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ccggaggcct gaacgacatc ttcgaggccc agaagattga atggcacgag 1440

tga 1443

<210> 288
<211> 489
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R-gamma-Fc(lỗ khóa) tiếp hợp protein

<400> 288

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly Asn Glu Asp
20 25 30

Ala Thr Thr Asp Phe Phe Leu Thr Ser Met Pro Thr Asp Ser Leu Ser
35 40 45

Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Val
50 55 60

Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Pro Thr
65 70 75 80

Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn Asp Lys Val
85 90 95

Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr Ser Gly Cys
100 105 110

Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln
115 120 125

Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln Met Leu Lys
130 135 140

Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Arg
145 150 155 160

Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg Phe Leu

165 170 175

Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp Asp His
180 185 190

Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser Leu Pro
195 200 205

Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Phe
210 215 220

Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser His Pro
225 230 235 240

Ile His Trp Gly Ser Asn Ser Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala
245 250 255

Leu Glu Ala Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
260 265 270

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
275 280 285

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
290 295 300

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
305 310 315 320

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
325 330 335

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
340 345 350

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
355 360 365

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
370 375 380

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

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
405 410 415

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
420 425 430

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

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
450 455 460

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
465 470 475 480

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485

<210> 289

<211> 1470
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R-gamma-Fc(lỗ khóa) tiếp hợp protein

<400> 289
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccctg 60

aacacgacaa ttctgacgcc caatgggaat gaagacgcca caactgattt cttcctgacc 120

tctatgccca ctgactccct cagtgtttcc actctgcccc tcccagaggt tcagtgtttt 180

gtgttcaatg tcgagtacat gaattgcact tggaacagca gctctgagcc ccagcctacc 240

aacctcactc tgcattattg gtacaagaat tcggataatg ataaagtcca gaagtgcagc 300

cactatctat tctctgaaga aatcacttct ggctgtcagt tgcaaaaaaa ggagatccac 360

ctctaccaaa cgtttgttgt tcagctccag gacccacggg aacccaggag acaggccaca 420

cagatgctaa aactgcagaa tctggtgatc ccctgggctc cggagaacct aacacttcgc 480

aaactgagtg aatcccagct agaactgaac tggaacaaca gattcttgaa ccactgtttg 540

gagcacttgg tgcagtaccg gactgactgg gaccacagct ggactgaaca atcagtggat 600

tatagacata agttctcctt gcctagtgtg gatgggcaga aacgctacac gtttcgtgtc 660

cggagccgct ttaacccact ctgtggaagt gctcagcatt ggagtgaatg gagccaccca 720

atccactggg ggagcaatag ttcaaaagag aatcctttcc tgtttgcatt ggaagccgga 780

gctcaggaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 840

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 900

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 960

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1020

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1080

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1140

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1200

accaagaacc aggtcagcct ctcgtgcgca gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1260

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1320

gactccgacg gctccttctt cctcgtgagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1380

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1440

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1470

<210> 290
<211> 217
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R alpha đơn vị con + Avi-tag + His-tag

<400> 290

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Lys Ile Thr His Ala Thr Phe Lys
20 25 30

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
35 40 45

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Pro Tyr Met Leu Cys Thr Gly
50 55 60

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
65 70 75 80

Ala Ala Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
85 90 95

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp
100 105 110

Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
115 120 125

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr
130 135 140

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
145 150 155 160

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
165 170 175

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly
180 185 190

Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
195 200 205

Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 291
<211> 654
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Xynomolgous IL-2R alpha đơn vị con + Avi-tag + His-tag

<400> 291
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtga gctctgtgac 60

gatgacccgc caaaaatcac acatgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc 120

atgttgaact gtgaatgcaa gagaggtttc cgcagaataa aaagcgggtc accctatatg 180

ctctgtacag gaaactctag ccactcgtcc tgggacaacc aatgtcaatg cacaagctct 240

gctgctcgga acacaacaaa acaagtgaca cctcaacctg aagaacagaa agaaagaaaa 300

accacagaaa tgcaaagtca aatgcagctg gcggaccaag tgagccttcc aggtcactgc 360

agggaacctc caccgtggga aaatgaagcc acagaaagaa tttatcattt cgtggtgggg 420

cagacggttt actaccagtg cgtccaggga tacagggctc tacacagagg tcctgctgag 480

agcgtctgca aaatgaccca cgggaagaca agatggaccc agccccagct catatgcaca 540

ggtgaagtcg acgaacagtt atattttcag ggcggctcag gcctgaacga catcttcgag 600

gcccagaaga tcgagtggca cgaggctcga gctcaccacc atcaccatca ctga 654

<210> 292
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 dạng tự nhiên (C125A) (4)

<400> 292
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 293
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G (C125A) (4)

<400> 293
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 294
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 đột biến L72G / F42A (C125A) (4)

<400> 294
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 295
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 triple đột biến F42A / Y45A / L72G (C125A) (4)

<400> 295
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 296
<211> 399
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IL-2 quadruple đột biến T3A / F42A /Y45A /L72G (C125A) (4)

<400> 296
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 297
<211> 593
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 28H1 (chìa khóa)-IL-2 qm

<400> 297

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

```
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
        355                 360                 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
    370                 375                 380

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

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                405                 410                 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
            420                 425                 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
        435                 440                 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser
    450                 455                 460

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
465                 470                 475                 480

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
                485                 490                 495

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
            500                 505                 510

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
        515                 520                 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
    530                 535                 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
545                 550                 555                 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
                565                 570                 575
```

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
580 585 590

Thr

<210> 298
<211> 1779
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 28H1 (chìa khóa)-IL-2 qm

<400> 298
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatgcc gggatgagct gaccaagaac 1080

caggtcagcc tgtggtgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320

tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggctcc 1380

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 1440

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 1500

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 1560

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 1620

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1680

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1740

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 1779

<210> 299
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 28H1 (lỗ khóa)

<400> 299

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 300
<211> 1338
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 28H1 (lỗ khóa)

<400> 300
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggcccctccg tgttcccct ggcccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga 480

gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc 540

ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc agcctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1080

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320

tccctgtctc cgggtaaa 1338

<210> 301
<211> 594
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm 4B9

<400> 301

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

```
Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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
        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 Gly 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 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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 Gly Gly
```

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 302
<211> 1782
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm 4B9

<400> 302
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 303
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4B9 (lỗ khóa)

<400> 303

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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
        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 Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
            340                 345                 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
        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 Val 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> 304
<211> 1341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4B9 (lỗ khóa)

<400> 304
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 305
<211> 592
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm DP47GS

<400> 305

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser
450 455 460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
465 470 475 480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
485 490 495

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
500 505 510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
515 520 525

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
530 535 540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
565 570 575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

<210> 306
<211> 1776
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm DP47GS

<400> 306

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc 300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc 360

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600

aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc 720

ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag 1080

gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200

tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggaggtt ctggcggagg tggctccgca 1380

cctgcctcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta 1440

cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca 1500

gccaagtttg ccatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa 1560

gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ggcgctcaaa gcaaaaactt tcacttaaga 1620

cccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca 1680

acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg 1740

attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact 1776

<210> 307
<211> 445
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab DP47GS (lỗ khóa)

<400> 307

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

```
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
        355                 360                 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    370                 375                 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385                 390                 395                 400

Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
                405                 410                 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            420                 425                 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 308
<211> 1335
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab DP47GS (lỗ khóa)

<400> 308

```
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc       60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggcagc      300

ggatttgact actggggcca aggaaccctg gtcaccgtct cgagtgctag caccaagggc      360

ccctccgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgctctg      420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc      480

ctgacctccg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gttctggcct gtatagcctg      540

agcagcgtgg tcaccgtgcc ttctagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg      600

aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgcgacaaa      660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc      720

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg      780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg      840
```

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgtg caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag 1080

gtcagcctct cgtgcgcagt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200

tccttcttcc tcgtgagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 309
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nhẹ DP47GS

<400> 309

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 310
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nhẹ DP47GS

<400> 310
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 311
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 311

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg 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 His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 312
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 312
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caag 324

<210> 313
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 313

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 Glu Phe
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe 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 Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 314
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 314
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agc 363

<210> 315
<211> 594
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4G8 (chìa khóa)-IL-2 qm

<400> 315

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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
        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 Gly 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 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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 Gly Gly
        435                 440                 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
    450                 455                 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465                 470                 475                 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
                485                 490                 495
```

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 316
<211> 1782
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4G8 (chìa khóa)-IL-2 qm

<400> 316
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 317
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4G8 (lỗ khóa)

<400> 317

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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
        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 Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
            340                 345                 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
        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 Val 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> 318
<211> 1341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab 4G8 (lỗ khóa)

<400> 318
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 319
<211> 600
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm CH1A1A

<400> 319

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 Glu Phe
            20                  25                  30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Val Thr Phe 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 Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
    130                 135                 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145                 150                 155                 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
                165                 170                 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350
```

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
450 455 460

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

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn
485 490 495

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala
500 505 510

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
515 520 525

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn
530 535 540

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
545 550 555 560

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
565 570 575

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala
580 585 590

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595 600

<210> 320
<211> 1800
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab (chìa khóa)-IL-2 qm CH1A1A

<400> 320
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt cccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agccccggga ggaacagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aagtccggag gcggaggctc cggcggcgga 1380

ggttctggcg gaggtggctc cgcacctgcc tcaagttcta caaagaaaac acagctacaa 1440

ctggagcatt tactgctgga tttacagatg attttgaatg gaattaataa ttacaagaat 1500

cccaaactca ccaggatgct cacagccaag tttgccatgc ccaagaaggc cacagaactg 1560

aaacatcttc agtgtctaga agaagaactc aaacctctgg aggaagtgct aaatggcgct 1620

caaagcaaaa actttcactt aagacccagg gacttaatca gcaatatcaa cgtaatagtt 1680

ctggaactaa agggatctga aacaacattc atgtgtgaat atgctgatga gacagcaacc 1740

attgtagaat ttctgaacag atggattacc tttgcccaaa gcatcatctc aacactgact 1800

<210> 321
<211> 451
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab CH1A1A (lỗ khóa)

<400> 321

```
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 Glu Phe
            20                  25                  30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Val Thr Phe 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 Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
    130                 135                 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145                 150                 155                 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
                165                 170                 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335
```

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 322
<211> 1353
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng-Fc Fab CH1A1A (lỗ khóa)

<400> 322
caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300

ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agcgctagca ccaagggccc aagcgtgttc cctctggccc ccagcagcaa gagcacaagc 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc acagtgccta gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt cccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780

cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaat gccaagacca agccccggga ggaacagtac 900

aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtgca ccctgccccc cagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aag 1353

<210> 323
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ CH1A1A

<400> 323

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg 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 His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 324
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ CH1A1A

<400> 324
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645