



(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)



1-0033864

(51)⁷ C07K 16/10

(13) B

(21) 1-2014-02996

(22) 07/03/2013

(86) PCT/EP2013/054606 07/03/2013

(87) WO/2013/132007 12/09/2013

(30) 61/608,414 08/03/2012 US; 12158525.1 08/03/2012 EP

(45) 25/11/2022 416

(43) 26/01/2015 322A

(73) Janssen Vaccines & Prevention B.V. (NL)

Archimedesweg 4, NL-2333 CN Leiden, The Netherlands

(72) KWAKS, Theodorus Hendrikus Jacobus (NL); VOGELS, Ronald (NL).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) PHÂN TỬ LIÊN KẾT CÓ KHẢ NĂNG LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI NGỪNG KẾT
TỔ HỒNG CẦU CỦA CÁC CHỦNG VIRUT CÚM B VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA
PHÂN TỬ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các phân tử liên kết, như các kháng thể đơn dòng ở người, liên kết với hemagglutinin của các virut cúm B, và có hoạt tính trung hòa rộng đối với các virut cúm này. Các phân tử liên kết không liên kết với hemagglutinin của các virut cúm A. Sáng chế còn đề xuất các phân tử axit nucleic mã hóa các phân tử liên kết, và các chế phẩm chứa các phân tử liên kết. Các phân tử liên kết có thể được sử dụng trong phép chẩn đoán, phép phòng bệnh và/hoặc điều trị các virut cúm B.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến y học. Cụ thể là sáng chế đề cập đến các phân tử liên kết ở người, ví dụ các kháng thể đơn dòng hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng, có khả năng liên kết với và làm trung hòa các virus cúm B, cụ thể là làm trung hòa các phân tử liên kết liên kết với và làm trung hòa các virus cúm B từ cả dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phép chẩn đoán, phép phòng bệnh và/hoặc điều trị các nhiễm trùng do virus cúm B gây ra, cụ thể là các nhiễm trùng do các virus cúm B từ cả dòng B/Yamagata và B/Victoria gây ra.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiễm cúm (còn được đề cập là “bệnh cúm” hoặc “cúm”) là một trong các bệnh thường gặp nhất được biết đến ở người gây ra khoảng từ ba đến năm triệu ca bệnh nặng và từ 250,000 đến 500,000 người chết mỗi năm trên toàn thế giới. Cúm lan nhanh thành dịch bệnh theo mùa ảnh hưởng 5-15% dân số và gánh nặng lên chi phí chăm sóc sức khỏe và giảm năng suất lao động trên phạm vi rộng (Tổ chức Y tế Thế giới (WHO)). Có ba loại vi rút cúm (loại A, B và C) gây ra các bệnh lây nhiễm ở người và động vật. Hiện nay, virus loại A và loại B là các tác nhân gây ra dịch và đại dịch cúm được thấy ở người.

Các nghiên cứu hiện nay về giải quyết dịch cúm năm bao gồm tiêm chủng hàng năm, tốt hơn là tạo ra bảo vệ chéo khác loại. Tuy nhiên, virus cúm lưu hành ở người dễ bị thay đổi kháng nguyên thường trực đòi hỏi thích nghi hàng năm của chế phẩm vacxin cúm để đảm bảo sự tương hợp có thể gần nhất giữa các chủng vacxin cúm và các chủng cúm lưu hành. Tuy ý, các thuốc chống virus, như oseltamivir (Tamiflu®) có thể có tác dụng để phòng và điều trị nhiễm cúm. Tuy nhiên, số lượng chủng virus cúm thể hiện kháng các thuốc chống virus như oseltamivir tăng lên.

Nghiên cứu khác là phát triển các phương pháp phòng bệnh hoặc chữa bệnh trên cơ sở kháng thể để trung hòa nhiều virus cúm mùa.

Các kháng thể làm trung hòa chéo rộng nhận diện epitop trong vùng gốc bảo thủ của HA của các virus cúm A thuộc nhóm phát sinh 1 (như các virus cúm bao gồm HA của loại phụ H1 hoặc H5) được bộc lộ gần đây (ví dụ CR6261, xem WO2008/028946), cũng như các kháng thể làm trung hòa chéo nhận diện epitop bảo thủ cao trong vùng gốc của HA của các virus cúm A thuộc nhóm phát sinh 2, như các virus cúm bao gồm HA của loại phụ H3 và/hoặc H7 (ví dụ CR8020, CR8043; xem WO 2010/130636). Mới đây, các kháng thể có khả năng liên kết với và làm trung hòa các virus cúm A của cả nhóm phát sinh 1 và nhóm 2, cũng như các virus cúm B được phát hiện (ví dụ CR9114, được mô tả trong đơn số EP11173953.8).

Đến nay, ít có sự quan tâm đối với các virus cúm B. Điều này có thể do thực tế là – chủ yếu được giới hạn ở người là vật chủ – các virus cúm B thiếu ổ chứa động vật lớn là mấu chốt để bùng phát đại các chủng cúm A đại dịch. Tuy nhiên, ảnh hưởng tích lũy của các bệnh dịch hàng năm trong các giai đoạn đại dịch liên hợp vượt quá ảnh hưởng của đại dịch và mặc dù tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong có thể quy cho cúm B thấp hơn so với các tỷ lệ của ví dụ các virus H3N2, thì vẫn cao hơn các tỷ lệ của virus H1N1 (Thompson (2003), Thompson (2004)).

Sự tiến triển của các virus cúm B khác biệt bởi sự cùng lưu thông của các dòng khác nhau về mặt di truyền và kháng nguyên trong các khoảng thời gian kéo dài. Hai dòng, đại diện bởi các virus nguyên mẫu B/Victoria/2/87 (dòng Victoria) và B/Yamagata/16/88 (dòng Yamagata), hiện đã được phân biệt (Kanegae (1990), Rota (1990)). B/Yamagata là dòng chính lưu hành đến những năm 1980, khi virus Dòng B/Victoria xuất hiện. Từ đó, các biến thể trôi dạt của cả hai dòng cúm B cùng lưu hành toàn bộ, với hai dòng lưu hành đồng thời trong các mùa cúm gần đây.

Cho thấy thực tế là các virus cúm B là nguyên nhân chính của dịch cúm mùa mỗi 2 – 4 năm, và do sự nghiêm trọng của bệnh đường hô hấp gây ra bởi một số virus cúm B, cũng như có ảnh hưởng lớn về kinh tế của bệnh dịch theo mùa, vẫn có nhu cầu đối với các phương pháp thay thế và hiệu quả để phòng và điều trị các loại phụ cúm B. Do đó có nhu cầu đối với các phân tử liên kết, ưu tiên là các phân tử liên kết làm trung hòa rộng ở người, có khả năng làm trung hòa chéo các virus cúm B.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các phân tử liên kết, cụ thể là các phân tử liên kết ở người, có khả năng liên kết đặc hiệu với và làm trung hòa các chủng virus cúm B từ cả dòng B/Yamagata và B/Victorias. Các phân tử liên kết không liên kết với các loại phụ của virus cúm A.

Sáng chế còn đề cập đến tiếp hợp miễn dịch và/hoặc các chế phẩm được chứa các phân tử liên kết, cũng như các phân tử axit nucleic mã hóa ít nhất vùng liên kết của các phân tử liên kết ở người.

Các phân tử liên kết, tiếp hợp miễn dịch và/hoặc các phân tử axit nucleic theo sáng chế thích hợp để dùng làm tác nhân phòng bệnh, chẩn đoán và/hoặc điều trị phổ biến cho các virus cúm B, bất kể loại phụ virus cúm B gây ra.

Mô tả văn tắt hình vẽ

FIG. 1 là bản đồ epitop dạng sơ đồ trên cơ sở các thử nghiệm tính cạnh tranh. Các kháng thể kháng cúm B được xác định theo sáng chế cụm thành 4 nhóm trên cơ sở liên kết/tính cạnh tranh với HA cúm B.

FIG. 2 thể hiện kết quả của thử nghiệm xâm nhập miễn dịch huỳnh quang được thiết kế để phân tích khả năng của các phân tử liên kết với liên kết thụ thể khối và thu nhận virus cúm. A. ức chế sự xâm nhập của virus bằng kết quả đọc được của miễn dịch huỳnh quang; B. Lây nhiễm của các tế bào MDCK với B/Florida/04/2006.

FIG. 3 thể hiện sự ức chế đường ra của virus nhờ phân tử liên kết theo sáng chế.

FIG. 4 thể hiện các kết quả của quét EM của các tế bào nhiễm cúm B.

FIG. 5 thể hiện bảo vệ in vivo bởi CR8033 chống lây nhiễm cúm B gây tử vong (B/Florida/04/2006 và B/Malaysia/2506/2004) ở chuột.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả được đưa ra như sau.

Thuật ngữ “được bao gồm” hoặc “bao gồm” như được sử dụng ở đây được xem là được theo sau bởi cụm từ “không giới hạn”.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “phân tử liên kết” đề cập đến immunoglobulin nguyên vẹn bao gồm các kháng thể đơn dòng, như các kháng thể đơn dòng thể khảm, nhân hóa hoặc của người, hoặc liên kết kháng nguyên và/hoặc vùng biến đổi bao gồm đoạn immunoglobulin cạnh tranh với immunoglobulin nguyên vẹn đối với liên kết đặc hiệu cho đối tác liên kết của immunoglobulin, ví dụ HA. Bất kể cấu trúc, đoạn liên kết kháng nguyên liên kết với cùng kháng nguyên được nhận diện bởi immunoglobulin nguyên vẹn. Đoạn liên kết kháng nguyên có thể bao gồm peptit hoặc polypeptit chứa trình tự axit amin có ít nhất 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, hoặc 250 gốc axit amin liên tiếp của trình tự axit amin của phân tử liên kết.

Thuật ngữ “phân tử liên kết”, như được sử dụng ở đây bao gồm toàn bộ các nhóm và nhóm phụ immunoglobulin đã biết trong lĩnh vực. Tùy thuộc vào trình tự axit amin của vùng hằng định của các chuỗi nặng của chúng, các phân tử liên kết có thể được phân chia thành năm các kháng thể nguyên vẹn chính: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM, và một số trong đó có thể được phân chia tiếp thành các nhóm phụ (isotyp), ví dụ, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4.

Các đoạn liên kết kháng nguyên bao gồm, trong số các loại khác, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, các đoạn của vùng bổ trợ xác định (CDR), kháng thể chuỗi đơn (scFv), kháng thể chuỗi đơn lưỡng trị, kháng thể chuỗi đơn của thực khuẩn thể, diabodies, triabodies, tetrabodies, (poly)peptit chứa ít nhất đoạn immunoglobulin đủ để cho phép kháng nguyên đặc hiệu liên kết với (poly)peptit, v.v. Các đoạn trên có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp hoặc bằng cách cắt enzym hoặc hoá học của các immunoglobulin nguyên vẹn hoặc chúng có thể được thiết kế gen bằng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp. Các phương pháp tạo ra là đã biết trong lĩnh vực và được mô tả, ví dụ trong Antibodies: A Laboratory Manual, Xuất bản bởi: E. Harlow và D. Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Phân tử liên kết hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của chúng có thể có một hoặc nhiều vị trí liên kết. Nếu có nhiều hơn một vị trí liên kết, vị trí liên kết có thể giống vị trí liên kết khác hoặc chúng có thể khác nhau.

Phân tử liên kết có thể là phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp nhưng cũng có thể là một phần của tiếp hợp miễn dịch. Phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp nhằm đề cập đến phân tử liên kết không tiếp hợp, không liên kết hoạt động hoặc nếu không liên kết vật lý hoặc chức năng với gốc hoặc đuôi gây hiệu quả, như trong số các loại khác chất độc, chất phóng xạ, liposom, enzym. Cần hiểu rằng các phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp không loại trừ các phân tử liên kết được làm ổn định, multimer hoá, nhân hoá hoặc bằng cách bất kỳ khác được thực hiện, ngoài cách gắn gốc hoặc đuôi gây hiệu quả. Theo đó, tất cả các phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp được biến đổi sau dịch mã được bao hàm ở đây, bao gồm khi các biến đổi được thực hiện trong môi trường tế bào tạo ra phân tử liên kết tự nhiên, bằng tế bào tạo ra phân tử liên kết tổ hợp, và được đưa vào bởi bàn tay con người sau khi tạo ra phân tử liên kết ban đầu. Tất nhiên, thuật ngữ phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp không loại trừ khả năng của phân tử liên kết thực hiện liên kết chức năng với các tế bào và/hoặc phân tử gây hiệu quả sau khi đưa vào cơ thể, do một số trong các tương tác này là cần thiết để sử dụng hiệu quả sinh học. Do đó, thiếu nhóm hoặc đuôi gây hiệu quả được liên kết được áp dụng trong định nghĩa cho phân tử liên kết trần hoặc không tiếp hợp in vitro, không in vivo.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “mẫu sinh học” bao hàm nhiều loại mẫu khác nhau, bao gồm máu và các mẫu chất lỏng khác có nguồn gốc sinh học, các mẫu mô cứng như mẫu sinh thiết hoặc nuôi cấy mô, hoặc tế bào dẫn xuất từ đó và thế hệ con của chúng. Thuật ngữ còn bao gồm các mẫu được thực hiện bằng cách bất kỳ sau khi thu được, như bằng xử lý với các chất phản ứng, hoà tan, hoặc làm giàu cho một số thành phần, như protein hoặc polynucleotit. Thuật ngữ bao hàm nhiều loại mẫu lâm sàng khác nhau thu được từ các loài bất kỳ, và còn bao gồm các tế bào trong nuôi cấy, dịch nổi tế bào và chất dung giải tế bào.

Thuật ngữ “các vùng hỗ trợ xác định” (CDR) như được sử dụng ở đây chỉ các trình tự trong vùng biến đổi của các phân tử liên kết, như immunoglobulin, mà thường góp phần vào phạm vi rộng cho vị trí liên kết kháng nguyên mà hỗ trợ về hình thái và

phân phối điện tích cho epitop được nhận diện trên kháng nguyên. Các vùng CDR có thể đặc hiệu cho epitop thẳng, epitop không liên tục, hoặc epitop cấu hình của các protein hoặc các đoạn protein, hoặc là có mặt trên protein ở dạng cấu hình bẩm sinh hoặc, trong một số trường hợp, có mặt trên protein ở dạng bị biến tính, ví dụ, bằng cách hoà tan trong SDS. Các epitop có thể còn chứa các biến đổi sau dịch mã của protein.

Thuật ngữ “loại bỏ”, như được sử dụng ở đây, chỉ sự thay đổi trong hoặc là axit amin hoặc trình tự nucleotit trong đó một hoặc nhiều axit amin hoặc gốc nucleotit, tương ứng, không có mặt so với phân tử đối chứng, thường xảy ra một cách tự nhiên.

Thuật ngữ “trình tự axit nucleic điều hoà biểu hiện” như được sử dụng ở đây đề cập đến trình tự polynucleotit cần để và/hoặc ảnh hưởng đến biểu hiện của trình tự mã hoá được liên kết hoạt động trong sinh vật chủ cụ thể. Trình tự axit nucleic điều hoà biểu hiện, như trong số các loại khác phù hợp các trình tự bắt đầu, trình tự kết thúc, trình tự khởi đầu phiên mã, trình tự tăng cường phiên mã; trình tự kìm hãm hoặc hoạt hoá phiên mã; các tín hiệu xử lý ARN hiệu quả như các tín hiệu cắt nối gen và polyadenyl hoá; các trình tự làm ổn định mRNA bào tương; các trình tự tăng cường hiệu quả dịch mã (ví dụ, vị trí liên kết ribosom); các trình tự tăng cường tính ổn định của protein; và nếu muốn, các trình tự tăng cường bài tiết protein, có thể là trình tự axit nucleic bất kỳ thể hiện hoạt tính trong sinh vật chủ được chọn và có thể được dẫn xuất từ gen mã hoá protein, hoặc là cùng loài hoặc khác loài với sinh vật chủ. Việc xác định và sử dụng trình tự điều hoà biểu hiện là quen thuộc với chuyên gia trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “biến thể chức năng”, như được sử dụng ở đây, đề cập đến phân tử axit nucleic hoặc phân tử liên kết bao gồm trình tự nucleotit và/hoặc axit amin được làm thay đổi bởi một hoặc nhiều nucleotit và/hoặc axit amin so với trình tự nucleotit và/hoặc axit amin của phân tử axit nucleic đối chứng hoặc phân tử liên kết. Biến thể chức năng của phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng cạnh tranh để liên kết với đối tác liên kết, ví dụ virus cúm, với phân tử liên kết đối chứng. Nói cách khác, các biến đổi trong trình tự axit amin và/hoặc nucleotit của phân tử liên kết đối chứng không có tác dụng đáng kể hoặc làm thay đổi tính chất liên kết của phân tử liên kết được mã hoá bởi trình tự nucleotit hoặc chứa trình tự axit amin, ví dụ phân tử liên kết vẫn có khả

năng nhận diện và liên kết đích của nó. Biến thể chức năng có thể có biến đổi trình tự bảo thủ bao gồm thay thế, thêm và loại bỏ nucleotit và axit amin. Các biến đổi này có thể được đưa vào bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực, như đột biến điểm định hướng và đột biến trung gian PCR ngẫu nhiên, và bao gồm nucleotit và axit amin tự nhiên cũng như không tự nhiên.

Việc thay thế axit amin bảo thủ bao gồm các axit amin trong đó gốc axit amin được thế bởi gốc axit amin có đặc tính cấu trúc và hoá học tương tự. Các họ gốc axit amin có chuỗi bên giống nhau được xác định trong lĩnh vực. Các họ này bao gồm axit amin với chuỗi bên bazơ (ví dụ, lysin, arginin, histidin), chuỗi bên axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), chuỗi bên phân cực không tích điện (ví dụ, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, xystein, tryptophan), chuỗi bên không phân cực (ví dụ, glyxin, alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, methionin), chuỗi bên mạch nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, isoleuxin) và chuỗi bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan). Hiển nhiên đối với chuyên gia trong lĩnh vực rằng các phân nhóm khác của các họ của gốc axit amin ngoài các họ được sử dụng ở trên có thể được dùng. Ngoài ra, biến thể có thể có thay thế axit amin, ví dụ, thay thế axit amin bằng gốc axit amin có đặc tính cấu trúc hoặc hóa học khác nhau. Các biến đổi phụ tương tự cũng có thể bao gồm loại bỏ hoặc chèn axit amin, hoặc cả hai. Hướng dẫn để xác định gốc axit amin nào có thể được thế, chèn, hoặc loại bỏ mà không cần phá bỏ hoạt tính miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách sử dụng các chương trình máy tính đã biết trong lĩnh vực.

Đột biến trong trình tự nucleotit có thể là biến đổi đơn được thực hiện ở một vị trí (đột biến điểm), như đột biến chuyển tiếp hoặc đột biến dị hóa, hoặc tùy ý, nucleotit đa có thể được chèn, xóa bỏ hoặc thay đổi ở vị trí đơn. Ngoài ra, một hoặc nhiều thay đổi có thể được thực hiện ở số lượng vị trí bất kỳ trong trình tự nucleotit. Các đột biến có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “loại phụ của virus cúm” liên quan đến các virus cúm A đề cập đến các biến thể của virus cúm A được đặc trưng bởi nhiều kết hợp của các protein bề mặt của virus cúm là hemagglutinin (H) và neuramidaza (N). Các loại phụ của virus cúm A

có thể được thể hiện bằng số H của chúng, ví dụ “virus cúm chứa HA của loại phụ H1 hoặc H3”, hoặc “virus cúm H1” “virus cúm H3”, hoặc bằng sự kết hợp của số H và số N, ví dụ “loại phụ của virus cúm H3N2” hoặc “H3N2”. Thuật ngữ “loại phụ” virus cúm bao gồm cụ thể toàn bộ “các chủng” virus cúm đơn trong đó mỗi loại phụ, mà thu được từ đột biến và thể hiện các thông số gây bệnh khác nhau. Các chủng này cũng có thể được đề cập dưới dạng các “thể phân lập” khác nhau của loại phụ virus cúm. Do đó, như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “chủng” và “thể phân lập” có thể được sử dụng thay đổi cho nhau.

Thuật ngữ “làm trung hòa” như được sử dụng ở đây liên quan đến phân tử liên kết theo sáng chế đề cập đến phân tử liên kết ức chế virus cúm khỏi sao chép, in vitro và/hoặc trong đối tượng, bất kể cơ chế đạt được sự trung hòa này. Thus, sự trung hòa có thể ví dụ đạt được bằng cách ức chế việc gắn hoặc kết dính của virus lên bề mặt tế bào, hoặc bằng cách ức chế sự dung hợp của màng virus và màng tế bào sau đó gắn virus vào tế bào đích, hoặc bằng cách ức chế đường ra của virus từ các tế bào bị nhiễm, và tương tự.

Thuật ngữ “làm trung hòa chéo” hoặc “sự trung hòa chéo” như được sử dụng ở đây liên quan đến các phân tử liên kết theo sáng chế đề cập đến khả năng của các phân tử liên kết theo sáng chế để làm trung hòa các virus cúm B từ cả dòng B/Yamagata và dòng B/Victoria, và/hoặc các chủng virus cúm B khác nhau trong các dòng này.

Thuật ngữ “vật chủ”, như được sử dụng ở đây, đề chỉ sinh vật hoặc tế bào mà vector như vector tách dòng hoặc vector biểu hiện được đưa vào. Sinh vật hoặc tế bào có thể là nhân sơ hoặc nhân thật. Ưu tiên là, vật chủ bao gồm tế bào chủ được phân lập, ví dụ tế bào chủ trong nuôi cấy. Thuật ngữ “tế bào chủ” chỉ có nghĩa là tế bào được cải biến đối với (trên)-sự biểu hiện của phân tử liên kết theo sáng chế và bao gồm các tế bào B mà biểu hiện nguồn gốc phân tử liên kết và các tế bào mà được biến đổi để trên-biểu hiện phân tử liên kết bằng cách làm bất tử, mở rộng, tăng cường biểu hiện v.v. Cần phải hiểu rằng thuật ngữ vật chủ không chỉ nhằm đề cập đến đối tượng là sinh vật hoặc tế bào cụ thể mà còn bao gồm thế hệ con của sinh vật hoặc tế bào này. Bởi vì một số cải biến có thể xảy ra trong các thế hệ kế tiếp do đột biến hoặc ảnh hưởng của môi

trường, thực tế thể hệ con này có thể không giống hệ sinh vật hoặc tế bào cha mẹ nhưng vẫn được bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ “vật chủ” như được sử dụng ở đây.

Thuật ngữ “người”, khi được áp dụng cho các phân tử liên kết như được xác định ở đây, đề cập đến các phân tử hoặc là được dẫn xuất trực tiếp từ người hoặc trên cơ sở trình tự dòng mầm của người. Khi phân tử liên kết được dẫn xuất từ hoặc trên cơ sở trình tự của người và sau đó được biến đổi, thì vẫn được coi là của người như được sử dụng xuyên suốt bản mô tả. Nói cách khác, thuật ngữ người, khi áp dụng cho các phân tử liên kết nhằm bao gồm các phân tử liên kết có các vùng biến đổi và hằng định được dẫn xuất từ trình tự immunoglobulin dòng mầm của người hoặc trên cơ sở các vùng biến đổi hoặc hằng định xảy ra ở người hoặc tế bào lympho của người và được biến đổi dưới dạng nào đó. Do đó, các phân tử liên kết ở người có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi trình tự immunoglobulin dòng mầm của người, bao gồm thay thế và/hoặc loại bỏ (ví dụ, đột biến được đưa vào bởi ví dụ đột biến đặc hiệu ngẫu nhiên hoặc vị trí *in vitro* hoặc bởi đột biến soma *in vivo*). “Trên cơ sở” như được sử dụng ở đây đề cập đến trường hợp trình tự axit nucleic có thể được sao chép chính xác từ mẫu, hoặc với đột biến phụ, như bằng phương pháp PCR để bị lỗi, hoặc thực trùng khớp nhân tạo với mẫu một cách chính xác hoặc có thay đổi nhỏ.

Thuật ngữ “chèn”, còn được biết như là thuật ngữ “thêm”, chỉ thay đổi về trình tự axit amin hoặc nucleotit tạo ra việc thêm một hoặc nhiều gốc axit amin hoặc nucleotit, tương ứng, so với trình tự bố mẹ.

Thuật ngữ “được phân lập”, khi áp dụng cho các phân tử liên kết như được xác định ở đây, đề cập đến các phân tử liên kết mà cơ bản không có các protein hoặc polypeptit khác, cụ thể là không có các phân tử liên kết khác có đặc tính kháng nguyên khác nhau, và và cũng cơ bản không có vật liệu và/hoặc chất hóa học tế bào khác. Ví dụ, khi các phân tử liên kết được tạo ra bằng cách tái tổ hợp, ưu tiên là chúng cơ bản không có các thành phần của môi trường nuôi cấy, và khi các phân tử liên kết được ra bằng cách tổng hợp hóa học, ưu tiên là cơ bản không có chất tiền thân hóa học hoặc chất hóa học khác, ví dụ, chúng được phân tách từ chất tiền thân hóa học hoặc chất hóa

học mà tham gia vào quá trình tổng hợp protein. Thuật ngữ “được phân lập” khi áp dụng cho các phân tử axit nucleic mã hóa các phân tử liên kết như được xác định ở đây, nhằm đề cập đến các phân tử axit nucleic trong đó trình tự nucleotit mã hóa các phân tử liên kết không có trình tự nucleotit khác, cụ thể là trình tự nucleotit mã hóa các phân tử liên kết liên kết với các đối tác liên kết khác. Ngoài ra, thuật ngữ “được phân lập” đề cập đến các phân tử axit nucleic cơ bản được phân tách từ các thành phần tế bào khác gắn kèm một cách tự nhiên phân tử axit nucleic acid tự nhiên trong vật chủ tự nhiên, ví dụ, ribosom, polymeraza, hoặc trình tự bộ gen mà nó liên kết tự nhiên với. Ngoài ra, các phân tử axit nucleic “được phân lập”, như các phân tử cDNA, can be cơ bản không có vật liệu tế bào khác, hoặc môi trường nuôi cấy khi được tạo ra bởi các kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc cơ bản không có chất tiền thân hóa học hoặc chất hóa học khác khi được tổng hợp hóa học.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” như được sử dụng ở đây đề cập đến việc tạo ra các phân tử kháng thể có tính đặc hiệu đơn. Kháng thể đơn dòng thể hiện tính đặc hiệu và ái lực liên kết đơn đối với epitop cụ thể. Theo đó, thuật ngữ “kháng thể đơn dòng ở người” đề cập đến kháng thể thể hiện tính đặc hiệu liên kết đơn mà có các vùng biến đổi và hằng định được dẫn xuất từ hoặc trên cơ sở trình tự immunoglobulin dòng mầm của người hoặc được dẫn xuất từ trình tự nhân tạo đầy đủ. Phương pháp tạo ra kháng thể đơn dòng không liên quan đến tính đặc hiệu liên kết.

Thuật ngữ “có trong tự nhiên” như được sử dụng ở đây như áp dụng cho đối tượng đề cập đến thực tế mà đối tượng hoặc hợp chất có thể được tìm thấy trong tự nhiên. Ví dụ, trình tự polypeptit hoặc polynucleotit có mặt trong sinh vật có thể được phân lập từ nguồn trong tự nhiên và không được biến đổi một cách cố ý bởi người trong phòng thí nghiệm là có trong tự nhiên.

Thuật ngữ “phân tử axit nucleic” như được sử dụng theo sáng chế đề cập đến dạng polyme cùnucleotit và bao gồm cả các sợi nghĩa và đối nghĩa của ARN, cADN, bộ gen, và các dạng tổng hợp và các polyme hỗn hợp của các loại trên. Nucleotit đề cập đến ribonucleotit, deoxynucleotit hoặc dạng biến đổi của tùy loại nucleotit. Thuật ngữ còn bao gồm dạng sợi đơn hoặc sợi đôi của ADN. Ngoài ra, polynucleotit có thể

bao gồm bất kỳ hoặc cả hai nucleotit có trong tự nhiên và được biến đổi liên kết với nhau bằng các liên kết nucleotit có trong tự nhiên và/hoặc không-có trong tự nhiên. Các phân tử axit nucleic có thể được cải biến về mặt hóa học hoặc hóa sinh học hoặc có thể chứa các bazơ nucleotit không có trong tự nhiên hoặc dẫn xuất bazơ nucleotit, như được hiểu dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các cải biến này bao gồm, ví dụ, đánh dấu, metyl hóa, thay thế một hoặc nhiều nucleotit có trong tự nhiên bằng chất tương tự, cải biến bên trong nucleotit như các liên kết không tích điện (ví dụ, metyl phosphonat, phosphotrieste, phosphoramidat, carbamat, v.v.), các liên kết tích điện (ví dụ, phosphorothioat, phosphorodithioat, v.v.), các gốc nhô ra (ví dụ, polypeptit), các chất xen vào (ví dụ, acridin, psoralen, v.v.), các chất cang hóa, các chất alkyl hóa, và các liên kết được cải biến (ví dụ, axit nucleic alpha anomeric, v.v.). Các thuật ngữ trên cũng nhằm bao gồm cấu hình tô pô bất kỳ, bao gồm các cấu hình sợi đơn, sợi đôi, được kẹp đôi một phần, gấp ba, được kẹp tóc, vòng và được khóa móc. Cũng bao gồm là các phân tử tổng hợp mà polynucleotit tương tự về khả năng liên kết của nó với trình tự được chỉ định thông qua liên kết hydro và các tương tác hóa học khác. Các phân tử này là đã biết trong lĩnh vực và bao gồm, ví dụ, các phân tử trong đó các liên kết peptit thay thế cho các liên kết phosphat trong bộ khung của phân tử. Đề cập đến trình tự axit nucleic bao hàm trình tự bổ sung của nó trừ khi được qui định khác. Do đó, đề cập đến phân tử axit nucleic có trình tự cụ thể cần được hiểu là bao hàm sợi bổ sung của nó, với trình tự bổ sung của nó. Sợi bổ sung cũng hữu dụng, ví dụ, đối với liệu pháp điều trị đối nghĩa, các mẫu dò lai hóa và các môi trường PCR.

Thuật ngữ “liên kết hoạt động” đề cập đến hai hoặc nhiều yếu tố của trình tự axit nucleic mà liên kết vật lý thông thường và có quan hệ chức năng với mỗi yếu tố khác. Ví dụ, trình tự khởi đầu phiên mã liên kết hoạt động với trình tự mã hóa, nếu trình tự khởi đầu phiên mã có thể bắt đầu hoặc điều chỉnh phiên mã hoặc biểu hiện trình tự mã hóa, trong trường hợp đó trình tự mã hóa cần được hiểu là “dưới sự kiểm soát của” trình tự khởi đầu phiên mã.

Bằng “tá dược dược dụng” nghĩa là chất trợ bất kỳ kết hợp với phân tử hoạt tính như thuốc, tác nhân, hoặc phân tử liên kết để tạo ra dạng liều dùng chấp nhận được

hoặc thích hợp. “Tá được được dụng” là tá được không độc tính với người nhận ở các liều lượng và nồng độ sử dụng, và tương hợp với các thành phần khác của chế phẩm bao gồm thuốc, tác nhân hoặc phân tử liên kết. Tá được được dụng được áp dụng rộng rãi và đã biết trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu”, như được sử dụng ở đây, đề cập đến tương tác của phân tử liên kết, ví dụ kháng thể, và đối tác liên kết của nó, ví dụ kháng nguyên, nghĩa là tương tác phụ thuộc vào sự có mặt của cấu trúc cụ thể, ví dụ yếu tố quyết định kháng nguyên hoặc epitop, lên đối tác liên kết. Nói cách khác, kháng thể một cách ưu tiên liên kết hoặc nhận diện đối tác liên kết ngay cả khi đối tác liên kết có mặt trong hỗn hợp các phân tử hoặc sinh vật khác. Liên kết có thể được trung gian bởi các tương tác cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị hoặc tổ hợp của cả hai. Nói theo cách khác nữa, thuật ngữ “liên kết đặc hiệu” nghĩa là liên kết đặc hiệu miễn dịch với các yếu tố quyết định kháng nguyên hoặc epitop và không liên kết đặc hiệu miễn dịch với các yếu tố quyết định khác nguyên hoặc epitop khác. Phân tử liên kết mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên có thể liên kết với các peptit hoặc polypeptit có ái lực thấp hơn như được xác định bởi, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA), BIACORE, hoặc các thử nghiệm khác đã biết trong lĩnh vực. Các phân tử liên kết hoặc các đoạn của chúng liên kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên có thể phản ứng chéo với các kháng nguyên liên quan, mang epitop giống nhau. Ưu tiên là, các phân tử liên kết hoặc các đoạn của chúng liên kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên không phản ứng chéo với các kháng nguyên khác.

“Thay thế”, như được sử dụng ở đây, chỉ sự thay thế một hoặc nhiều axit amin hoặc nucleotit bằng axit amin hoặc nucleotit khác nhau, tương ứng.

Thuật ngữ “lượng có hiệu quả chữa bệnh” đề cập đến lượng phân tử liên kết như được xác định ở đây mà có hiệu quả để ngăn ngừa, cải thiện và/hoặc chữa trị tình trạng gây ra do nhiễm virus cúm B. Việc làm thuyên giảm như được sử dụng ở đây có thể chỉ việc làm thuyên giảm các triệu chứng bệnh nhìn thấy được hoặc quan sát được, sự xâm

nhiễm và phát triển trong máu của virus (viremia), hoặc sự biểu hiện khác có thể đánh giá được của nhiễm virus cúm.

Thuật ngữ “điều trị” đề cập đến chữa bệnh điều trị cũng như các phương pháp phòng bệnh hoặc phòng ngừa đến chữa khỏi hoặc dừng hoặc ít nhất làm chậm tiến triển của bệnh. Những người cần điều trị bao gồm những người đã bị nhiễm có tình trạng bệnh lý do nhiễm virus cúm cũng như những người đã được phòng ngừa lây nhiễm virus cúm. Những người cần điều trị được chữa khỏi một phần hoặc hoàn toàn khỏi nhiễm virus cúm có thể cũng cần điều trị. Phòng ngừa bao gồm việc làm ức chế hoặc làm giảm sự phát tán của virus cúm hoặc ức chế hoặc làm giảm sự khởi phát, phát triển hoặc tiến triển của một hoặc nhiều triệu chứng đi kèm với nhiễm virus cúm.

Thuật ngữ “vector” chỉ phân tử axit nucleic mà trong đó phân tử axit nucleic thứ hai có thể được chèn vào để đưa vật chủ vào trong khi nó sẽ được sao chép và trong một số trường hợp là được biểu hiện. Nói cách khác, vector có khả năng vận chuyển phân tử axit nucleic mà nó được liên kết. Các vector tách dòng cũng như vector biểu hiện được bao hàm trong thuật ngữ “vector”, như được sử dụng ở đây. Các vector bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, plasmid, cosmid, nhiễm sắc thể vi khuẩn nhân tạo (bacterial artificial nhiễm sắc thể -BAC) và nhiễm sắc thể nấm nhân tạo (yeast artificial nhiễm sắc thể - YAC) và các vector có nguồn gốc từ thực khuẩn thể hoặc các virus thực vật và động vật (bao gồm người). Các vector bao gồm điểm khởi đầu sao chép được nhận diện bởi vật chủ được đề xuất và trong trường hợp các vector biểu hiện, trình tự khởi đầu phiên mã và các vùng điều hòa khác được nhận diện bằng vật chủ. Vector chứa phân tử axit nucleic thứ hai được đưa vào tế bào bằng cách biến đổi, chuyển nhiễm, hoặc bằng cách thực hiện sử dụng các cơ chế xâm nhập của virus. Một số vector có khả năng tự sao chép trong vật chủ mà chúng được đưa vào (ví dụ, các vector có điểm khởi đầu sao chép của vi khuẩn có thể sao chép trong vi khuẩn). Các vector khác có thể được tích hợp vào bộ gen của vật chủ khi được đưa vào vật chủ, và do đó được sao chép cùng với bộ gen của vật chủ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất sáng chế đề xuất các phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với hemagglutinin (HA) của các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata và B/Victoria, và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B này của dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria. Theo sáng chế, các phân tử liên kết không liên kết với HA của các virus cúm A. Các phân tử liên kết có khả năng làm trung hòa các virus cúm B cả *in vitro* và *in vivo*.

Ưu tiên là, các phân tử liên kết là các phân tử liên kết của người. Theo một phương án ưu tiên, các phân tử liên kết là các kháng thể của người, hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết liên kết với epitop khác so với epitop CR9114 (như được mô tả trong đơn đang xét nghiệm EP11173953.8), bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 116, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 117. CR9114 được thể hiện là có khả năng liên kết với và *in vivo* làm trung hòa các virus cúm A của cả hai nhóm phát sinh 1 và 2, cũng như các virus cúm B.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết liên kết với vùng đầu của protein HA của các virus cúm B, cụ thể là với vùng đầu của HA1 của các virus cúm B.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết phong bế liên kết thụ thể tế bào của các virus cúm B của dòng B/Yamagata và/hoặc của dòng B/Victoria.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết không phong bế liên kết thụ thể tế bào của các virus cúm của dòng B/Yamagata và/hoặc dòng B/Victoria.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết phong bế đường ra của các virus cúm B, cụ thể là của chủng virus cúm của cả hai dòng B/Victoria và B/Yamagata, từ các tế bào bị nhiễm.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết được phân lập có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, trong đó các phân tử liên kết không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 71 hoặc trình tự axit amin có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73, hoặc trình tự axit amin có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một phương án, phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 71 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, trong đó các phân tử liên kết không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và trong đó các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:1; CDR2 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:2, và CDR3 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:3. Theo sáng chế, các vùng CDR là theo Kabat và cộng sự (1991) như được mô tả trong Sequences of Proteins of Immunological Interest.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, CDR2 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 6.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 4, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự

axit amin của SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 6.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết liên kết miễn dịch đặc hiệu với cùng epitop trên protein HA của virus cúm B làm phân tử liên kết, bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 71 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 73.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 14, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 15, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 16, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 17, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 19.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 27, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 28, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 29, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 24, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 30.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết, có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Victoria, cụ thể là chủng virus cúm B B/Malaysia/2506/2004, khi axit amin ở vị trí 168 của HA của virus cúm B, cụ thể là chủng virus cúm B B/Malaysia/2506/2004, là prolin (P), và không có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Victoria, cụ thể là B/Malaysia/2506/2004, khi axit amin ở vị trí 168 của HA của virus cúm B, cụ thể là B/Malaysia/2506/2004, là glutamin (Q).

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phân tử liên kết, có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata, cụ thể là chủng virus cúm B B/Florida/04/2006, khi axit amin ở vị trí 38 của HA của virus cúm B, cụ thể là chủng virus cúm B

B/Florida/04/200, là lysin (K), và cũng có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata, cụ thể là B/Florida/04/2006, khi axit amin ở vị trí 38 của HA của virus cúm B, cụ thể là B/Florida/04/2006, là axit glutamic (E).

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết mà có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, và không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75, hoặc trình tự axit amin có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, hoặc trình tự axit amin có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 75 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 78 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 79.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, trong đó các phân tử liên kết không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và trong đó các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; CDR2 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8, và CDR3 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10, CDR2 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11, và CDR3 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12 hoặc 13.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 7, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 8, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 10, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 11, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 7, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 8, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 10, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 11, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO:13.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết liên kết miễn dịch đặc hiệu với cùng epitop trên protein HA của virus cúm B là phân tử liên kết, bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 75 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77.

Theo một số phương án, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 20, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 21, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 22, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 23, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 24, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO:25.

Theo phương án nhất định, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 31, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của

SEQ ID NO: 32, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 33, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 4, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO:34.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phân tử liên kết, có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Victoria, cụ thể là chủng virus cúm B B/Malaysia/2506/2004, khi axit amin ở vị trí 168 của HA của virus cúm B, cụ thể là chủng virus cúm B B/Malaysia/2506/2004, là prolin (P), và cũng có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Victoria, cụ thể là B/Malaysia/2506/2004, khi axit amin ở vị trí 168 của HA của virus cúm B, cụ thể là B/Malaysia/2506/2004, is glutamin (Q).

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phân tử liên kết, có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata, cụ thể là chủng virus cúm B B/Florida/04/2006, khi axit amin ở vị trí 38 của HA của virus cúm B, cụ thể là chủng virus cúm B B/Florida/04/200, là lysin (K), và không có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata, cụ thể là B/Florida/04/2006, khi axit amin ở vị trí 38 của HA của virus cúm B, cụ thể là B/Florida/04/2006, là axit glutamicd (E).

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết, có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, trong đó các phân tử liên kết không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và trong đó các phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 113 hoặc trình tự axit amin có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 115, hoặc trình tự axit amin có ít nhất

hoặc ít nhất khoảng 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % hoặc hơn tương đồng trình tự với chúng.

Theo một phương án, phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 113 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 115.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với protein hemagglutinin (HA) của virus cúm B và có khả năng làm trung hòa các chủng virus cúm B của cả hai dòng B/Victoria/2/87 và dòng B/Yamagata/16/88, trong đó các phân tử liên kết không liên kết với protein HA của các loại phụ của virus cúm A, và trong đó các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:54; CDR2 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:55 và CDR3 chuỗi nặng, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO:56.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 57, CDR2 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ, bao gồm trình tự của các gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 58.

Theo phương án nhất định, phân tử liên kết bao gồm CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 54, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 55, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 56, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 57 CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO:58.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử liên kết liên kết miễn dịch đặc hiệu với cùng epitop trên protein HA của virus cúm B là phân tử liên kết, bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 113 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 115.

Các virus cúm B, giống như các virus cúm A, lây nhiễm các tế bào bằng cách liên kết với các gốc axit sialic trên bề mặt tế bào của tế bào đích và sau đó chuyển vào

endosom, bằng cách dung hợp các màng của chúng với các màng endosom và giải phóng phức hợp phiên mã bộ gen vào tế bào. Cả hai quá trình liên kết thụ thể và dung hợp màng được trung gian bởi glycoprotein HA. HA của cả hai virus cúm A và B bao gồm hai vùng phân biệt về cấu trúc, ví dụ vùng đầu hình cầu, mà chứa vị trí liên kết thụ thể có trách nhiệm đính kèm virus vào tế bào đích, và tham gia vào hoạt tính kết dính hồng cầu của HA, và vùng gốc, chứa peptit dung hợp cần để dung hợp màng giữa vỏ bọc virus và màng endosom của tế bào. Protein HA là trimer trong đó mỗi monome chứa hai glycopolypeptit liên kết disulphit, HA1 và HA2, được tạo ra trong quá trình lây nhiễm bằng cách cắt phân giải protein của chất tiền thân (HA0). Cắt là cần thiết cho hoạt tính lây nhiễm virus vì cần phải khơi mào HA để dung hợp màng, cho phép thay đổi về cấu hình. Hoạt hoá của phân tử khơi mào xảy ra ở độ pH thấp trong endosom, từ pH5 đến pH6, và đòi hỏi thay đổi rộng trong cấu trúc HA.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với đơn vị phụ HA1 của HA protein, cụ thể là vùng đầu của đơn vị phụ HA1. Các phân tử liên kết có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với cấu hình thẳng hoặc cấu trúc và/hoặc epitop trên đơn vị phụ HA1 của HA protein. Phân tử HA có thể được tinh chế từ các virus hoặc được tạo ra bằng cách tái tổ hợp và tùy chọn được phân lập trước khi sử dụng. Tuy ý, HA có thể được biểu hiện trên bề mặt của các tế bào.

Các phân tử liên kết theo sáng chế có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với các virus cúm B sống được, sống và/hoặc lây nhiễm hoặc ở dạng bất hoạt/yếu dần. Các phương pháp làm bất hoạt/yếu dần virus, ví dụ các virus cúm là đã biết trong lĩnh vực và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, điều trị bằng formalin, β -propiolacton (BPL), merthiolat, vũ/hoặc ánh sáng cực tím.

Các phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với một hoặc nhiều đoạn của các virus cúm B, như trong số các loại khác tạo ra một hoặc nhiều protein và/hoặc (poly)peptit, được dẫn xuất từ các loại phụ của các virus cúm B hoặc một hoặc nhiều protein được tạo ra bằng cách tái tổ hợp và/hoặc polypeptit của virus cúm B. Trình tự nucleotit và/hoặc axit amin của protein của nhiều chủng cúm B khác nhau có thể tìm thấy trong cơ sở dữ liệu GenBank, cơ sở dữ liệu NCBI Influenza

Virus Sequence, cơ sở dữ liệu Influenza Sequence (ISD), cơ sở dữ liệu EMBL và/hoặc các cơ sở dữ liệu khác. Chuyên gia trong lĩnh vực có thể dễ dàng tìm thấy các trình tự này trong cơ sở dữ liệu tương ứng.

Theo phương án khác các phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng liên kết đặc hiệu với đoạn protein và/hoặc polypeptit đề cập ở trên, trong đó đoạn ít nhất bao gồm epitop được nhận diện bởi các phân tử liên kết theo sáng chế. "Epitop" như được sử dụng ở đây là gốc có khả năng liên kết với phân tử liên kết theo sáng chế với ái lực cao vừa đủ để tạo thành phức hợp liên kết phân tử kháng nguyên phát hiện được.

Các phân tử liên kết theo sáng chế có thể là các phân tử immunoglobulin nguyên vẹn như các kháng thể đơn dòng, hoặc các phân tử liên kết có thể là các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, đoạn vùng bổ trợ xác định (CDR), kháng thể chuỗi đơn (scFv), kháng thể chuỗi đơn lưỡng trị, kháng thể chuỗi đơn của thực khuẩn thể, diabodies, triabodies, tetrabodies, và (poly)peptit chứa ít nhất đoạn immunoglobulin đủ để cho phép liên kết kháng nguyên đặc hiệu với chủng virus cúm hoặc đoạn của chúng. Theo một phương án ưu tiên các phân tử liên kết theo sáng chế là các kháng thể đơn dòng ở người, và/hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng. Các phân tử liên kết cũng có thể là nanobodies, alphabodies, affibodies, giá đỡ vùng FN3 và giá đỡ khác trên cơ sở các vùng trong các protein lặp (người), như Adnectins, Anticalins, Darpins, v.v, hoặc giá đỡ khác bao gồm trình tự liên kết epitop.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết are intact các kháng thể bao gồm complete heavy và chuỗi nhẹ vùng biến đổi cũng như các vùng hằng định chuỗi nặng heavy và chuỗi nhẹ đầy đủ.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết có hoạt tính gây độc tế bào bổ sung-phụ thuộc (CDC) và/hoặc hoạt tính gây độc tế bào trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) activity.

Các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng không-được phân lập hoặc được phân lập. Ngoài ra, các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được

sử dụng một mình hoặc trong hỗn hợp bao gồm ít nhất một phân tử liên kết (hoặc biến thể hoặc đoạn của chúng) theo sáng chế, và một hoặc nhiều phân tử liên kết khác liên kết với bệnh cúm và có tác dụng ức chế virus cúm. Nói cách khác, các phân tử liên kết có thể được sử dụng trong tổ hợp, *ví dụ*, là chế phẩm được bao gồm hai hoặc nhiều phân tử liên kết, các biến thể hoặc đoạn của chúng. Ví dụ, các phân tử liên kết có các hoạt tính khác nhau, nhưng bổ sung có thể được kết hợp trong liệu pháp duy nhất để đạt được hiệu quả phòng bệnh, chữa bệnh hoặc chẩn đoán mong muốn, nhưng tùy ý, các phân tử liên kết hoạt tính giống nhau cũng có thể được kết hợp trong liệu pháp duy nhất để đạt được hiệu quả phòng bệnh, chữa bệnh hoặc chẩn đoán mong muốn. Tùy chọn, hỗn hợp cũng có thể bao gồm ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế và ít nhất một tác nhân chữa bệnh khác. Ưu tiên là, tác nhân chữa bệnh như, ví dụ, các chất ức chế M2 (ví dụ, amantidin, rimantadin) và/hoặc các chất ức chế neuraminidaza (ví dụ, zanamivir, oseltamivir) là hữu dụng trong phép phòng bệnh và/hoặc điều trị lây nhiễm virus cúm

Thông thường, phân tử liên kết theo sáng chế có thể liên kết với các đối tác liên kết của nó, ví dụ virus cúm B của dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria, và/hoặc các đoạn của chúng, với hằng số ái lực (giá trị K_d) thấp hơn $0,2 \times 10^{-4}$ M, $1,0 \times 10^{-5}$ M, $1,0 \times 10^{-6}$ M, $1,0 \times 10^{-7}$ M, ưu tiên là thấp hơn $1,0 \times 10^{-8}$ M, ưu tiên hơn là thấp hơn $1,0 \times 10^{-9}$ M, ưu tiên hơn là thấp hơn $1,0 \times 10^{-10}$ M, ưu tiên hơn nữa là thấp hơn $1,0 \times 10^{-11}$ M, và cụ thể là thấp hơn $1,0 \times 10^{-12}$ M. Hằng số ái lực có thể thay đổi đối với các isotyp kháng thể. Ví dụ, ái lực liên kết đối với isotyp IgM đề cập đến ái lực liên kết bằng ít nhất khoảng $1,0 \times 10^{-7}$ M. Hằng số ái lực có thể ví dụ đo được bằng cách sử dụng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ sử dụng hệ thống BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden).

Các phân tử liên kết theo sáng chế thể hiện hoạt tính làm trung hòa. Hoạt tính làm trung hòa có thể ví dụ được đo như mô tả ở đây. Các thử nghiệm thay thế đo hoạt tính làm trung hòa được mô tả trong ví dụ WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: Tổ chức Y tế thế giới, 2005, phiên bản 2002.5.

Thông thường, các phân tử liên kết theo sáng chế có hoạt tính làm trung hòa 50 $\mu\text{g/ml}$ hoặc ít hơn, ưu tiên là 20 $\mu\text{g/ml}$ hoặc ít hơn, ưu tiên hơn là hoạt tính làm trung hòa 10 $\mu\text{g/ml}$ hoặc ít hơn, ưu tiên hơn nữa là 5 $\mu\text{g/ml}$ hoặc ít hơn, như được xác định trong thử nghiệm trung hoà virus *in vitro* (VNA) như được mô tả trong ví dụ 6. Các phân tử liên kết theo sáng chế có thể liên kết với virus cúm hoặc đoạn của chúng ở dạng tan được như ví dụ ở dạng mẫu hoặc ở dạng huyền phù hoặc có thể liên kết với các virus cúm hoặc các đoạn của chúng được liên kết hoặc gắn vào chất mang hoặc chất nền, ví dụ, tấm vi chuẩn, màng và vòng hạt, etc. Chất mang hoặc chất nền có thể được làm từ thủy tinh, chất dẻo (ví dụ, polystyren), polysacarit, nylon, nitroxenluloza, hoặc Teflon, v.v. Bề mặt các chất hỗ trợ này có thể là rắn hoặc xốp và có dạng thích hợp bất kỳ. Ngoài ra, các phân tử liên kết may liên kết với virus cúm ở dạng tinh chế/được phân lập hoặc dạng không tinh chế/không phân lập.

Như đề cập ở trên, sáng chế theo một số phương án đề xuất các phân tử liên kết ở người được phân lập có khả năng nhận diện và liên kết với epitop trong protein haemagglutinin cúm (HA) của các virus cúm B, trong đó các phân tử liên kết này có hoạt tính làm trung hòa kháng các virus cúm B của cả hai dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victorias, cả *in vitro* và *in vivo*. Theo sáng chế, đã thấy rằng các phân tử liên kết theo sáng chế trung hoà chéo loại phụ virus cúm thuộc cả hai dòng phát sinh loài. Chuyên gia trong lĩnh vực, trên cơ sở được bộc lộ ở đây, có thể xác định xem kháng thể thực tế có phản ứng chéo với protein HA từ các loại phụ khác nhau và cũng xác định xem chúng có khả năng làm trung hòa các virus cúm của các loại phụ khác nhau *in vitro* và/hoặc *in vivo*.

Khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm các biến thể chức năng của phân tử liên kết như xác định ở trên. Các phân tử được coi là biến thể chức năng của phân tử liên kết theo sáng chế, nếu các phân tử liên kết biến thể có khả năng cạnh tranh để liên kết đặc hiệu miễn dịch với virus cúm hoặc đoạn của chúng với các phân tử liên kết “bố mẹ” hoặc “đối chứng”. Nói cách khác, các phân tử được coi là biến thể chức năng của phân tử liên kết theo sáng chế khi biến thể chức năng vẫn có khả năng liên kết với epitop giống nhau hoặc chồng lấn của virus cúm hoặc đoạn của chúng. Theo mục đích

của sáng chế “bố mẹ” và “đôi chứng” sẽ được sử dụng là đồng nghĩa tức là hông tin của phân tử đôi chứng hoặc bố mẹ, hoặc phân tử vật lý bản thân nó có thể tạo thành cơ sở cho biến thể. Biến thể chức năng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các dẫn xuất mà cơ bản tương tự về trình tự cấu trúc ban đầu, bao gồm trình tự có sự biến đổi trong thụ thể Fc hoặc các vùng khác tham gia vào chức năng gây tác dụng, và/hoặc chứa ví dụ các biến đổi *in vitro* hoặc *in vivo*, hoá học và/hoặc hoá sinh, mà không thấy ở phân tử liên kết bố mẹ. Các biến đổi này bao gồm trong số các loại khác axetyl hoá, axyl hoá, ghép cộng hoá trị của dẫn xuất nucleotit hoặc nucleotit, ghép cộng hoá trị của dẫn xuất lipit hoặc lipit, liên kết chéo, hình thành liên kết disulfit, glycosyl hoá, hydroxyl hoá, metyl hoá, oxy hoá, peg hoá, quá trình phân giải protein, phosphoryl hoá, và tương tự. Tuy ý, biến thể chức năng có thể là các phân tử liên kết như được xác định theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin có sự thay thế, chèn, loại bỏ hoặc kết hợp của chúng một hoặc nhiều axit amin so với trình tự axit amin của các phân tử liên kết bố mẹ. Ngoài ra, biến thể chức năng có thể bao gồm cắt cụt trình tự axit amin ở một hoặc cả hai điểm cuối amin hoặc carboxyl. Biến thể chức năng theo sáng chế có thể có ái lực liên kết giống hoặc khác nhau, hoặc cao hơn hoặc thấp hơn, so với phân tử liên kết bố mẹ nhưng vẫn có khả năng liên kết với virus cúm hoặc đoạn của chúng. Ví dụ, biến thể chức năng theo sáng chế có thể có ái lực liên kết tăng hoặc giảm đối với virus cúm hoặc đoạn của chúng so với các phân tử liên kết bố mẹ. Theo một số phương án, trình tự axit amin của vùng biến đổi, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vùng khung, vùng siêu biến đổi, cụ thể là vùng CDR3, được biến đổi. Nhìn chung, vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng bao gồm ba vùng siêu biến đổi, bao gồm ba CDR, và các vùng bảo thủ hơn, còn gọi là vùng khung (FRs). Vùng siêu biến đổi bao gồm các gốc axit amin từ các CDR và các gốc axit amin từ các vùng siêu biến đổi. Biến thể chức năng trong phạm vi của sáng chế có ít nhất khoảng 80% đến khoảng 99%, ưu tiên là ít nhất khoảng 70% đến khoảng 99%, ưu tiên hơn là ít nhất khoảng 80% đến khoảng 99%, ưu tiên hơn nữa là ít nhất khoảng 90% đến khoảng 99%, ưu tiên nhất là ít nhất khoảng 95% đến khoảng 99%, cụ thể là ít nhất khoảng 97% đến khoảng 99% tương đồng và/hoặc tương tự trình tự axit amin với các phân tử liên kết bố mẹ như được xác định ở đây. Các thuật

toán máy tính như trong số các loại khác Gap hoặc Bestfit đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực có thể được dùng để sắp thẳng hàng tối ưu trình tự axit amin để so sánh và xác định các gốc axit amin tương tự hoặc trùng nhau. Biến thể chức năng có thể thu được bằng cách thay thế các phân tử liên kết bố mẹ hoặc các phần của chúng bằng phương pháp sinh học phân tử thông thường đã biết trong lĩnh vực bao gồm, nhưng không giới hạn ở, PCR dễ bị lỗi, đột biến trực tiếp oligonucleotit, đột biến điểm định hướng và bố trí lại chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án biến thể chức năng theo sáng chế có hoạt tính làm trung hòa kháng các virus cúm B. Hoạt tính làm trung hòa có thể hoặc là trùng nhau, hoặc cao hơn hoặc thấp hơn so với các phân tử liên kết bố mẹ. Như được sử dụng trong sáng chế này, khi thuật ngữ phân tử liên kết (người) được sử dụng, nó còn bao hàm biến thể chức năng của phân tử liên kết (người). Các thử nghiệm để kiểm chứng xem phân tử liên kết biến thể có hay không hoạt tính làm trung hòa là đã biết trong lĩnh vực (xem WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: Tổ chức Y tế thế giới, 2005 phiên bản 2002.5).

Theo một số phương án, biến thể chức năng là các phân tử liên kết bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến, so với SEQ ID NO: 71 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến so với SEQ ID NO: 73.

Theo một số phương án, biến thể chức năng là các phân tử liên kết bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến, so với SEQ ID NO: 75 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến so với SEQ ID NO: 77.

Theo một số phương án, biến thể chức năng là các phân tử liên kết bao gồm trình tự biến đổi chuỗi nặng bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến, so với SEQ ID NO: 113 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm một hoặc nhiều axit amin đột biến, như một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm axit amin đột biến so với SEQ ID NO: 115.

Theo một số phương án, phân tử liên kết theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm các phân tử liên kết bao gồm:

- (a) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 59, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 17, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 60;
- (b) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 61, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 62, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 63;
- (c) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 59, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 64, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 65, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 66; and
- (d) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 59, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 67, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 68, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 69;

- (e) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 35, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 36 và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 37, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 4, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 38, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 39;
- (f) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 40, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 41, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 42, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 43, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 5, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 44;
- (g) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 45, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 46, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 47, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 48, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 38, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 49; and
- (h) CDR1 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 45, CDR2 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và CDR3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 47, và CDR1 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 51, CDR2 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 52, và CDR3 chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 53.

Theo một số phương án, phân tử liên kết được chọn từ nhóm bao gồm:

- a) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 119 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 121;
- b) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 123 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 125;
- c) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 129;
- d) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 131 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 133;

- e) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 77 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 79;
- f) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 101 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 103;
- g) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 105 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 107; and
- h) phân tử liên kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO: 109 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO: 111.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết theo sáng chế được dùng làm thuốc, và ưu tiên để dùng trong chữa bệnh và/hoặc phòng bệnh điều trị nhiễm cúm gây ra do các virus cúm B. Virus cúm gây nhiễm cúm và có thể được điều trị bằng cách sử dụng các phân tử liên kết theo sáng chế có thể là virus cúm B của dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm được bao gồm ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế, và ít nhất tá được được dùng.

Theo một phương án khác nữa sáng chế đề cập đến việc sử dụng phân tử liên kết theo sáng chế trong điều chế thuốc để phòng bệnh, và/hoặc điều trị lây nhiễm virus cúm.

Lây nhiễm virus cúm có thể được phòng ngừa và/hoặc điều trị bằng cách sử dụng các phân tử liên kết theo sáng chế có thể xảy ra ở dân số nhỏ, nhưng cũng có thể lan rộng trên thế giới thành dịch mùa hoặc, trong trường hợp xấu, thành đại dịch toàn cầu đe dọa hàng triệu người. Sáng chế đề xuất các phân tử liên kết có thể trung hòa sự lây nhiễm các chủng cúm gây ra các dịch mùa này, cũng như đại dịch tiềm ẩn.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất tiếp hợp miễn dịch, ví dụ các phân tử bao gồm ít nhất một phân tử liên kết như được xác định ở đây và còn bao gồm ít nhất một đuôi, như trong số các loại khác <217 gốc/tác nhân phát hiện được. Cũng được đề cập trong sáng chế là hỗn hợp của tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế hoặc hỗn hợp của ít nhất một tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế và phân tử khác, như tác nhân chữa bệnh hoặc phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch khác. Theo các phương án

nữa, tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế may bao gồm hơn một đuôi. Các đuôi này có thể giống hoặc khác nhau và có thể được nối/liên kết không cộng hóa trị với các phân tử liên kết. (Các) đuôi còn có thể được nối/liên kết trực tiếp với các phân tử liên kết ở người qua liên kết cộng hóa trị. Tuy ý, (các) đuôi có thể được nối/liên kết với các phân tử liên kết bằng một hoặc nhiều hợp chất kết nối. Các kỹ thuật để liên kết các đuôi với các phân tử liên kết là đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực.

Các đuôi của tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế có thể là tác nhân chữa bệnh, nhưng chúng cũng có thể là các gốc/tác nhân phát hiện được. Các đuôi thích hợp trong chữa bệnh và/hoặc phòng ngừa có thể là độc tố hoặc các phần chức năng của chúng, chất kháng sinh, enzym, các phân tử liên kết khác mà làm tăng kích thích thực bào hoặc miễn dịch. Tiếp hợp miễn dịch bao gồm tác nhân phát hiện được có thể được sử dụng bằng cách chẩn đoán để, ví dụ, đánh giá xem đối tượng đã bị lây nhiễm virus cúm hoặc theo dõi sự phát triển hoặc tiến triển của lây nhiễm virus cúm là một phần của quy trình thử nghiệm lâm sàng để, ví dụ, xác định hiệu quả của phác đồ điều trị được cho. Tuy nhiên, chúng cũng có thể được sử dụng cho các mục đích phát hiện và/hoặc phân tích và/hoặc chẩn đoán khác. Các gốc/tác nhân phát hiện được bao gồm, nhưng không giới hạn ở, enzym, nhóm giả, vật liệu huỳnh quang, vật liệu phản quang, vật liệu phản quang sinh học, vật liệu phóng xạ, kim loại phát positron, và ion kim loại thuận từ không phóng xạ. Các đuôi được dùng để ghi nhãn các phân tử liên kết để nhằm mục đích phát hiện và/hoặc phân tích và/hoặc chẩn đoán phụ thuộc vào kỹ thuật phát hiện/phân tích/chẩn đoán đặc hiệu và/hoặc phương pháp được sử dụng như trong số các loại khác nhuộm hoá mô miễn dịch của mẫu (mô), phát hiện tế bào dòng chảy, phát hiện đếm tế bào bằng quét lazer, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang, thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISAs), thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIAs), các thử nghiệm sinh học (ví dụ, thử nghiệm thực bào), phương pháp thấm Western, v.v. Ghi nhãn thích hợp cho các kỹ thuật phát hiện/phân tích/chẩn đoán và/hoặc các phương pháp đã biết trong lĩnh vực là nằm trong khả năng của chuyên gia trong lĩnh vực.

Ngoài ra, các phân tử liên kết ở người hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế còn có thể gắn với chất hỗ trợ rắn, đặc biệt hữu dụng thử nghiệm miễn dịch *in vitro* hoặc tinh chế các virus cúm hoặc đoạn của chúng. Các chất hỗ trợ rắn này có thể là xốp hoặc không xốp, phẳng hoặc không phẳng. Các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được dung hợp vào trình tự đánh dấu, như peptit để tạo điều kiện tinh chế. Các ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đuôi hexa-histidin, đuôi hemagglutinin (HA), đuôi myc hoặc đuôi flag. Tùy ý, kháng thể có thể được liên hợp với kháng thể thứ hai để tạo thành dị liên hợp kháng thể. Theo dấu hiệu khác các phân tử liên kết theo sáng chế có thể liên hợp/gắn với một hoặc nhiều kháng nguyên. Ưu tiên là, các kháng nguyên này là kháng nguyên được nhận diện bởi hệ miễn dịch của đối tượng mà liên hợp phân tử liên kết-kháng nguyên được đưa vào đó. Các kháng nguyên có thể giống nhau, nhưng cũng có thể khác nhau. Phương pháp liên kết để ghép các kháng nguyên và các phân tử liên kết là đã biết trong lĩnh vực và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, việc sử dụng tác nhân liên kết chéo. Các phân tử liên kết theo sáng chế sẽ liên kết với virus cúm HA và các kháng nguyên kèm theo các phân tử liên kết sẽ bắt đầu tấn công tế bào T mạnh trên liên hợp, mà cuối cùng sẽ dẫn đến việc huỷ diệt virus cúm.

Tiếp theo việc tạo ra tiếp hợp miễn dịch hoá học bằng cách liên kết, trực tiếp hoặc gián tiếp, thông qua ví dụ chất liên kết, tiếp hợp miễn dịch có thể tạo ra là protein dung hợp bao gồm các phân tử liên kết theo sáng chế và đuôi thích hợp. Protein dung hợp có thể là khi được tạo ra bởi các phương pháp đã biết trong lĩnh vực như, ví dụ, tái tổ hợp bằng cách hình thành các phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hóa các phân tử liên kết trong khung với trình tự nucleotit mã hóa (các) đuôi thích hợp và sau đó biểu hiện các phân tử axit nucleic.

Khía cạnh theo sáng chế đề xuất các phân tử axit nucleic mã hoá ít nhất phân tử liên kết, biến thể chức năng hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế. Các phân tử axit nucleic này có thể được sử dụng làm hợp chất trung gian cho mục đích tách dòng, ví dụ trong quá trình trưởng thành ái lực được mô tả ở trên. Theo một phương án ưu tiên, các phân tử axit nucleic là được phân lập hoặc tinh chế.

Chuyên gia trong lĩnh vực hiểu rằng biến thể chức năng của các phân tử axit nucleic cũng là một phần của sáng chế. Biến thể chức năng là trình tự axit nucleic có thể dịch mã trực tiếp, sử dụng mã gen chuẩn, để tạo ra trình tự axit amin giống với trình tự được dịch mã từ các phân tử axit nucleic bố mẹ.

Ưu tiên là, các phân tử axit nucleic mã hoá các phân tử liên kết bao gồm các vùng CDR được mô tả ở trên. Theo phương án khác các phân tử axit nucleic mã hoá các phân tử liên kết bao gồm hai, ba, bốn, năm hoặc thậm chí cả sáu vùng CDR của các phân tử liên kết theo sáng chế.

Theo phương án khác, các phân tử axit nucleic mã hoá các phân tử liên kết bao gồm chuỗi nặng bao gồm trình tự chuỗi nặng biến đổi được mô tả ở trên. Theo phương án khác các phân tử axit nucleic mã hoá các phân tử liên kết bao gồm chuỗi nhẹ bao gồm trình tự chuỗi nhẹ biến đổi được mô tả ở trên. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các phân tử liên kết theo sáng chế được cho dưới đây.

Theo khía cạnh khác của sáng chế đề xuất các vector, ví dụ các cấu trúc nucleic acid, bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic theo sáng chế. Vector có thể được dẫn xuất từ plasmit như trong số các loại khác F, R1, RP1, Col, pBR322, TOL, Ti, v.v.; cosmit; thể thực khuẩn như lambda, lambdoid, M13, Mu, P1, P22, Q β , T-even, T-odd, T2, T4, T7, v.v.; virus thực vật. Vector có thể được sử dụng để tách dòng và/hoặc biểu hiện các phân tử liên kết theo sáng chế và có thể thậm chí được sử dụng nhằm mục đích liệu pháp gen. Vector bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic theo sáng chế liên kết hoạt động với một hoặc nhiều phân tử axit nucleic điều hoà biểu hiện cũng được bao gồm trong sáng chế. Việc chọn vector phụ thuộc vào quy trình tái tổ hợp tiếp theo và vật chủ được sử dụng. Việc đưa vector vào các tế bào chủ có thể bị ảnh hưởng bởi trong số các loại khác chuyển nhiễm canxi phosphat, lây nhiễm virus, chuyển nhiễm trung gian DEAE-dextran, chuyển nhiễm lipofectamin hoặc xung điện. Vector có thể sao chép tự quản hoặc có thể sao chép với nhiễm sắc thể mà chúng được tích hợp vào. Ưu tiên là, vector chứa một hoặc nhiều đánh dấu lựa chọn. Việc chọn đánh dấu có thể phụ thuộc vào các tế bào chủ của lựa chọn, mặc dù không giới hạn cho sáng chế

như đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực. Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kanamycin, neomycin, puromycin, hygromycin, zeoxin, gen thymidin kinaza từ virus đơn công Herpes (HSV-TK), gen dihydrofolat reductaza từ chuột (dhfr). Vector bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa các phân tử liên kết ở người được mô tả ở trên liên kết hoạt động với một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa protein hoặc peptit mà có thể sử dụng để phân lập các phân tử liên kết ở người cũng được bao hàm trong sáng chế. Các protein hoặc peptit này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, glutathione-S-transferaza, protein liên kết maltoza, polyhistidin liên kết kim loại, protein huỳnh quang xanh lá, luxiferaza và beta-galactosidaza.

Vật chủ chứa một hoặc nhiều bản sao của vector được đề cập ở trên là khía cạnh khác theo sáng chế. Ưu tiên là, vật chủ là các tế bào chủ. Các tế bào chủ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tế bào của động vật có vú, thực vật, có nguồn gốc từ côn trùng, nấm hoặc vi khuẩn. Các tế bào vi khuẩn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tế bào từ vi khuẩn dương tính Gram hoặc vi khuẩn âm tính Gram như một số loài thuộc giống *Escherichia*, như *E. coli*, và *Pseudomonas*. Trong nhóm các tế bào nấm ưu tiên là các tế bào nấm được sử dụng. Biểu hiện ở nấm có thể thu được bằng cách sử dụng các chủng nấm như trong số các loại khác *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Hansenula polymorpha*. Ngoài ra, các tế bào côn trùng như các tế bào từ *Drosophila* và Sf9 có thể được sử dụng làm các tế bào chủ. Bên cạnh đó, các tế bào chủ có thể là các tế bào thực vật như trong số các loại khác các tế bào từ cây trồng như cây lâm nghiệp, hoặc các tế bào từ cây cho thức ăn và nguyên liệu thô như cây ngũ cốc, hoặc cây thuốc, hoặc các tế bào từ cây trang trí, hoặc các tế bào từ khóm hoa. Các tế bào thực vật hoặc thực vật được biến đổi (chuyển gen) là khi được tạo ra bởi các phương pháp đã biết, ví dụ, chuyển gen trung gian *Agrobacterium*, biến đổi đĩa lá, biến đổi nguyên mẫu bởi chuyển AND bao gồm polyetylen glycol, xung điện, siêu âm, vi tiêm hoặc chuyển gen bolistic. Ngoài ra, hệ biểu hiện thích hợp có thể là hệ baculovirus. Các hệ biểu hiện sử dụng các tế bào động vật có vú, như các tế bào Chinese Hamster Ovary (CHO), các tế bào COS, các tế bào BHK, các tế bào NSO hoặc các tế bào khối u ác tính Bowes là được ưu tiên theo sáng chế. Các tế bào động vật có vú cung cấp các

protein được biểu hiện với các biến đổi sau dịch mã tương tự nhất với các phân tử tự nhiên có nguồn gốc từ động vật có vú. Do sáng chế làm việc với các phân tử mà phải cho dùng cho người, hệ biểu hiện người hoàn thiện sẽ được đặc biệt ưu tiên. Do đó, ưu tiên hơn nữa là, các tế bào chủ là các tế bào người. Các ví dụ của các tế bào người là trong số các loại khác các tế bào HeLa, 911, AT1080, A549, 293 và HEK293T. Theo các phương án ưu tiên, các tế bào tạo ra ở người bao gồm ít nhất một phần chức năng của trình tự axit nucleic mã hoá vùng E1 adenovirut ở định dạng biểu hiện. Theo các phương án ưu tiên khác nữa, các tế bào chủ này được dẫn xuất từ vồng mạc người và được làm bất tử với axit nucleic bao gồm trình tự E1 adenovirut, như các tế bào 911 hoặc dòng tế bào lắng phủ ở European Collection of Cell Cultures (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Great Britain on 29 February 1996 under number 96022940 và được bán dưới nhãn hiệu PER.C6® (PER.C6 là nhãn hiệu của Crucell Holland B.V.). Trong mục đích của sáng chế “các tế bào PER.C6” đề cập đến các tế bào được lắng phủ dưới số 96022940 hoặc tổ tiên, ngược hoặc xuôi dòng cũng như con cháu từ tổ tiên của các tế bào được lắng phủ, cũng như các dẫn xuất của bất kỳ các loại trên. Việc tạo ra các protein tái tổ hợp trong các tế bào chủ có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực. Việc sử dụng các tế bào được bán dưới nhãn hiệu PER.C6® là cơ sở tạo ra protein mong muốn đã được mô tả trong WO 00/63403 tài liệu này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Phương pháp tạo ra phân tử liên kết theo sáng chế là khía cạnh bổ sung của sáng chế. Phương pháp bao gồm các bước a) nuôi cấy vật chủ theo sáng chế dưới các điều kiện có lợi cho biểu hiện phân tử liên kết, và b) tùy chọn, khôi phục phân tử liên kết được biểu hiện. Các phân tử liên kết được biểu hiện có thể được tái sinh từ chiết xuất không tế bào, nhưng ưu tiên là chúng được tái sinh từ môi trường nuôi cấy. Phương pháp tạo ra trên còn có thể được sử dụng tạo ra biến thể chức năng của các phân tử liên kết và/hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế. Phương pháp tái sinh protein, như các phân tử liên kết, từ chiết xuất không tế bào hoặc môi trường nuôi cấy là đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực. Các phân tử liên kết, biến thể chức năng và/hoặc tiếp hợp

miễn dịch thu được nhờ phương pháp được mô tả ở trên cũng là một phần của sáng chế.

Tuỳ ý, tiếp theo biểu hiện trong tế bào chủ, như các tế bào chủ, các phân tử liên kết và tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp bằng các chất tổng hợp peptit thông thường hoặc hoặc các hệ dịch mã không tế bào sử dụng axit nucleic ARN được dẫn xuất từ các phân tử ADN theo sáng chế. Các phân tử liên kết và tiếp hợp miễn dịch thu được nhờ phương pháp tạo tổng hợp được mô tả ở trên hoặc các hệ dịch mã không tế bào cũng là một phần của sáng chế.

Theo một phương án khác nữa, các phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể được tạo ra ở các động vật có vú chuyển gen, không phải người, như trong số các loại khác thỏ, dê hoặc bò, và tiết vào ví dụ sữa của chúng.

Theo một phương án tuỳ ý khác nữa, các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được tạo ra từ các động vật có vú chuyển gen không phải người, như ví dụ chuột hoặc thỏ chuyển gen mà biểu hiện gen immunoglobulin của người. Ưu tiên là, các động vật có vú chuyển gen không phải người có bộ gen bao gồm trao đổi gen chuỗi nặng của người và a trao đổi gen chuỗi nhẹ của người mã hoá toàn bộ hoặc một phần các phân tử liên kết ở người được mô tả ở trên. Động vật có vú chuyển gen không phải người có thể gây miễn dịch bằng cách làm giàu hoặc tinh chế virus cúm hoặc a đoạn của chúng. Quy trình để gây miễn dịch động vật có vú không phải người đã được bộc lộ trong lĩnh vực. Xem Using Antibodies: A Laboratory Manual, Edited by: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York and Current Protocols in Immunology, Sản xuất bởi: J.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., New York, các tài liệu được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Quy trình gây miễn dịch thường bao gồm gây miễn dịch phức, hoặc là có hoặc là không có tá được như tá được đầy đủ Freund và tá được không đầy đủ Freund, nhưng cũng có thể bao gồm gây miễn dịch AND trần. Theo phương án khác, các phân tử liên kết ở người khi được tạo ra bởi B-các tế bào, plasma và/hoặc các tế bào trí nhớ được dẫn xuất từ các động vật chuyển gen. Theo một phương án khác nữa, các phân tử liên kết ở người khi được tạo ra bởi

dòng tế bào lai, được tạo ra bằng cách dung hợp các tế bào B thu được từ động vật có vú không phải người chuyển gen được mô tả ở trên thành các tế bào bất tử. Các tế bào B, các tế bào plasma và dòng tế bào lai thu được từ động vật có vú không phải người chuyển gen được mô tả ở trên và các phân tử liên kết ở người thu được từ động vật có vú không phải người chuyển gen được mô tả ở trên, các tế bào B, các tế bào plasma và/hoặc trí nhớ và dòng tế bào lai cũng là một phần theo sáng chế.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm bao gồm ít nhất phân tử liên kết, ưu tiên là kháng thể đơn dòng ở người, theo sáng chế, ít nhất biến thể chức năng của chúng, ít nhất tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế và/hoặc kết hợp của chúng. Ngoài ra, chế phẩm có thể bao gồm trong số các loại khác các phân tử làm ổn định, như albumin hoặc polyetylen glycol, hoặc muối. Ưu tiên là, muối được dùng là muối mà giữ được hoạt tính sinh học mong muốn của các phân tử liên kết và không gây ra bất kỳ tác động độc tính sinh học không mong muốn nào. Nếu cần, các phân tử liên kết ở người theo sáng chế có thể được bao trong hoặc trên vật liệu để bảo vệ chúng khỏi hoạt động của axit hoặc các điều kiện tự nhiên hoặc không tự nhiên khác mà có thể gây bất hoạt các phân tử liên kết.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm bao gồm ít nhất phân tử axit nucleic như được xác định trong sáng chế. Chế phẩm có thể bao gồm dung dịch nước như dung dịch nước chứa muối (ví dụ, NaCl hoặc muối được mô tả ở trên), chất tẩy (ví dụ, SDS) và/hoặc các thành phần thích hợp khác.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến chế phẩm được bao gồm ít nhất phân tử liên kết, như kháng thể đơn dòng ở người, theo sáng chế (hoặc đoạn hoặc biến thể chức năng của chúng), ít nhất tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế, ít nhất chế phẩm theo sáng chế, hoặc kết hợp của chúng. Chế phẩm được theo sáng chế còn bao gồm ít nhất một tá dược được dụng. Tá dược được dụng là đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực. Chế phẩm được theo sáng chế có thể còn bao gồm ít nhất một tác nhân chữa bệnh khác. Các tác nhân thích hợp là đã biết với chuyên gia trong lĩnh vực.

Theo một số phương án chế phẩm được theo sáng chế bao gồm ít nhất một phân tử liên kết bổ sung, ví dụ chế phẩm được có thể là phức hợp hoặc hỗn hợp của các phân

tử liên kết. Chế phẩm được có thể bao gồm ít nhất hai phân tử liên kết theo sáng chế, hoặc ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế và ít nhất một phân tử liên kết virus cúm và/hoặc phân tử trung hòa khác, như kháng thể khác trực tiếp kháng protein HA hoặc kháng các cấu trúc kháng nguyên khác có mặt trên các virus cúm, như M2, và/hoặc các phân tử liên kết làm trung hòa một hoặc nhiều tác nhân gây bệnh khác. Theo phương án khác phân tử liên kết bổ sung có thể được tạo công thức để cho dùng đồng thời riêng biệt hoặc lần lượt.

Theo một số phương án, các phân tử liên kết biểu hiện hoạt tính làm trung hòa hiệp trợ, khi sử dụng kết hợp. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "hiệp trợ" nghĩa là hiệu quả kết hợp của các phân tử liên kết khi sử dụng kết hợp là lớn hơn hiệu quả cộng lại khi sử dụng riêng lẻ. Các phân tử liên kết hoạt tính hiệp trợ có thể liên kết với các cấu trúc khác nhau trên các đoạn giống hoặc khác nhau của virus cúm. Cách tính hiệp trợ là bằng cách chỉ số kết hợp. Định nghĩa chỉ số kết hợp (CI) được mô tả bởi Chou và Talalay (1984). Chế phẩm có thể ví dụ bao gồm một phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa và một phân tử liên kết không trung hòa. Các phân tử liên kết không trung hòa và trung hòa cũng có thể hoạt động hỗ trợ trong việc trung hòa virus cúm.

Theo một số phương án, chế phẩm được may bao gồm ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế và ít nhất một phân tử liên kết nữa, ưu tiên là phân tử liên kết làm trung hòa virus cúm nữa. Các phân tử liên kết trong chế phẩm được ưu tiên là có khả năng phản ứng với các virus cúm của các nhóm phụ. Các phân tử liên kết có thể có ái lực cao và có tính đặc hiệu rộng. Ưu tiên là, cả hai phân tử liên kết trung hòa chéo các phân tử trong đó mỗi phân tử làm trung hòa các virus cúm của các nhóm phụ khác nhau. Ngoài ra, ưu tiên là chúng làm trung hòa nhiều chủng của mỗi trong số các loại phụ virus cúm khác nhau là có thể.

Theo một số phương án, chế phẩm được bao gồm ít nhất một tác nhân phòng bệnh và/hoặc chữa bệnh khác. Ưu tiên là, tác nhân chữa bệnh và/hoặc phòng bệnh khác nữa là tác nhân có khả năng phòng ngừa và/hoặc chữa lây nhiễm virus cúm và/hoặc tình trạng gây ra bởi lây nhiễm này. Tác nhân chữa bệnh và/hoặc phòng bệnh bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tác nhân kháng virus. Các tác nhân này có thể là các phân tử

liên kết, các phân tử nhỏ, các hợp chất hữu cơ hoặc vô cơ, enzym, trình tự polynucleotit, peptit kháng virus, v.v. Các tác nhân khác thường được dùng để điều trị cho người bệnh bị nhiễm các virus cúm là các chất ức chế M2 (ví dụ, amantadin, rimantadin) và/hoặc các chất ức chế neuraminidaza (ví dụ, zanamivir, oseltamivir). Các chất này có thể được sử dụng kết hợp với các phân tử liên kết theo sáng chế. “Kết hợp với” ở đây nghĩa là đồng thời, là các chế phẩm riêng biệt, hoặc là chế phẩm kết hợp duy nhất, hoặc theo phác đồ sử dụng liên tiếp là các chế phẩm riêng biệt, theo thứ tự bất kỳ. Các tác nhân có khả năng phòng ngừa và/hoặc chữa lây nhiễm virus cúm và/hoặc tình trạng gây ra bởi lây nhiễm này là trong giai đoạn thử nghiệm có thể cũng sử dụng làm tác nhân chữa bệnh và/hoặc phòng bệnh khác hữu dụng theo sáng chế.

Các phân tử liên kết hoặc chế phẩm được theo sáng chế có thể được thí nghiệm trong hệ mẫu động vật thích hợp trước khi dùng cho người. Các hệ mẫu động vật này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chuột, chồn và khỉ.

Thông thường, chế phẩm được phải là vô trùng và ổn định dưới các điều kiện sản xuất và lưu trữ. Các phân tử liên kết, tiếp hợp miễn dịch, hoặc các chế phẩm theo sáng chế có thể ở dạng bột để hoàn nguyên trong tá dược được dụng thích hợp trước khi hoặc tại thời điểm phân phối. Trong trường hợp bột vô trùng để điều chế dung dịch tiêm vô trùng, các phương pháp điều chế được ưu tiên là làm khô trong chân không và làm khô lạnh (đông khô) thu được bột của các thành phần hoạt tính cộng với thành phần mong muốn bổ sung bất kỳ từ dung dịch được lọc vô trùng trước đó của chúng.

Tùy ý, các phân tử liên kết, tiếp hợp miễn dịch, hoặc chế phẩm theo sáng chế có thể ở dạng dung dịch và tá dược được dụng thích hợp có thể được thêm và/hoặc trộn lẫn trước hoặc tại thời điểm phân phối để tạo ra dạng tiêm phân liều đơn vị. Ưu tiên là, tá dược được dụng sử dụng trong sáng chế là thích hợp với nồng độ thuốc cao, có thể duy trì tính lỏng riêng và, nếu cần, có thể làm chậm hấp thụ.

Việc lựa chọn đường dùng tối ưu của chế phẩm được có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau bao gồm các đặc tính vật lý hoá học của các phân tử hoạt tính trong chế phẩm, tính cấp thiết của trạng thái lâm sàng và mối quan hệ của các nồng độ plasma của các phân tử hoạt tính với hiệu quả chữa bệnh mong muốn. Ví dụ, nếu cần,

các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được tạo ra với chất mang mà sẽ bảo vệ chúng khỏi việc giải phóng nhanh, như chế phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm mô cấy, thuốc dán trên da, và hệ phân phối chế phẩm vi nang. Các polyme thoái biến sinh học, tương hợp sinh học có thể trong số các loại khác được sử dụng, như etylen vinyl axetat, polyanhydrit, axit polyglycolic, collagen, polyorthoeste, và axit polylactic. Ngoài ra, có thể cần bao các phân tử liên kết bằng, hoặc cùng cho dùng các phân tử liên kết với, vật liệu hoặc hợp chất ngăn ngừa sự bất hoạt của các phân tử liên kết ở người. Ví dụ, các phân tử liên kết có thể được dùng cho đối tượng trong chất mang thích hợp, ví dụ, hạt mỡ hoặc chất pha loãng.

Đường dùng có thể được chia thành hai loại, dùng qua đường miệng và dùng ngoài đường tiêu hóa. Đường dùng được ưu tiên là trong tĩnh mạch hoặc bằng cách hít xông.

Các dạng liều dùng qua đường miệng có thể được tạo công thức trong số các loại khác thành viên nén, troches, lozenges, các huyền phù nước hoặc dầu, bột hoặc hạt phân tán được, nhũ tương, viên nang cứng, bao nang gelatin mềm, xi rô hoặc cồn ngọt, thuốc viên, viên bao đường, chất lỏng, gel, hoặc bột nhão. Các chế phẩm này có thể chứa các tá dược được phẩm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất pha loãng trơn, tác nhân tạo hạt và disintegrating, tác nhân liên kết, tác nhân bôi trơn, chất bảo quản, chất tạo màu, chất tạo mùi hoặc chất làm ngọt, các dầu thực vật hoặc dầu khoáng, chất làm ướt, và chất làm đầy.

Chế phẩm được theo sáng chế còn có thể tạo công thức để dùng ngoài đường tiêu hóa. Chế phẩm để cho dùng ngoài đường tiêu hóa có thể là trong số các loại khác có dạng dung dịch hoặc huyền phù tiêm hoặc pha không độc vô trùng đẳng trương chứa nước hoặc không chứa nước. Dung dịch hoặc huyền phù có thể bao gồm các tác nhân không gây độc đối với người nhận ở liều dùng và nồng độ được sử dụng như 1,3-butanediol, dung dịch Ringer, dung dịch Hank, dung dịch natri clorua đẳng trương, dầu, axit béo, chất gây tê cục bộ, chất bảo quản, chất đệm, chất làm tăng độ nhớt hoặc độ tan, chất chống oxy hóa tan được trong nước, chất chống oxy hóa tan được trong dầu và chất tạo chelat kim loại.

Theo khía cạnh khác, các phân tử liên kết như các kháng thể đơn dòng ở người (các đoạn chức năng và các biến thể của chúng), tiếp hợp miễn dịch, chế phẩm, hoặc chế phẩm được theo sáng chế có thể được sử dụng làm thuốc hoặc tác nhân chẩn đoán. Do đó, các phương pháp chẩn đoán, điều trị và/hoặc phòng chống lây nhiễm virus cúm sử dụng các phân tử liên kết, tiếp hợp miễn dịch, chế phẩm, hoặc chế phẩm được theo sáng chế là khía cạnh khác của sáng chế. Các phân tử được đề cập ở trên có thể trong số các loại khác được sử dụng để chẩn đoán, phòng bệnh, điều trị, hoặc kết hợp của chúng, lây nhiễm virus cúm do virus cúm B gây ra. Chúng thích hợp để điều trị người bệnh chưa được điều trị bị lây nhiễm virus cúm và người bệnh đã hoặc đang được điều trị nhiễm virus cúm.

Các phân tử hoặc chế phẩm được đề cập ở trên có thể được dùng kết hợp với các phân tử khác hữu dụng trong chẩn đoán, phòng bệnh và/hoặc điều trị. Chúng có thể được sử dụng *in vitro*, *ex vivo* hoặc *in vivo*. Ví dụ, các phân tử liên kết như các kháng thể đơn dòng ở người (hoặc các biến thể chức năng của chúng), tiếp hợp miễn dịch, chế phẩm hoặc chế phẩm được theo sáng chế có thể là cùng sử dụng với vắc xin kháng virus cúm (nếu có). Tùy ý, vắc xin cũng có thể được cho dùng trước hoặc sau khi cho dùng các phân tử theo sáng chế. Thay vì vắc xin, các tác nhân kháng virus cũng có thể được sử dụng kết hợp với các phân tử liên kết theo sáng chế. Các tác nhân kháng virus thích hợp được đề cập ở trên.

Các phân tử thường được tạo công thức thành chế phẩm và chế phẩm được theo sáng chế với lượng có hiệu quả chữa bệnh hoặc chẩn đoán. Tùy ý, chúng có thể được tạo công thức và cho dùng độc lập. Ví dụ các phân tử khác như tác nhân kháng virus có thể được áp dụng theo hệ thống, trong khi các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được áp dụng trong tĩnh mạch.

Điều trị có thể được nhằm vào nhóm người bệnh dễ bị nhiễm cúm. Nhóm người bệnh này bao gồm, nhưng không giới hạn ở ví dụ, người già (ví dụ ≥ 50 tuổi, ≥ 60 tuổi, và ưu tiên là ≥ 65 tuổi), người trẻ (ví dụ ≤ 5 tuổi, ≤ 1 year old), người bệnh nằm viện

và người bệnh đã lây nhiễm đã được điều trị bằng hợp chất kháng virus nhưng có biểu hiện đáp ứng kháng virus không đầy đủ.

Phác đồ phân liều có thể được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng mong muốn tối ưu (ví dụ, đáp ứng chữa bệnh). Khoảng liều dùng thích hợp có thể chẳng hạn là từ 0,01-100 mg/kg khối lượng cơ thể, tốt hơn là từ 0,1-50 mg/kg khối lượng cơ thể, tốt hơn là từ 0,01-15 mg/kg khối lượng cơ thể. Ngoài ra, ví dụ, viên thuốc đơn có thể được cho dùng, một vài liều phân chia có thể được cho dùng trong thời gian hoặc liều dùng có thể được giảm hoặc tăng từng phần như được chỉ ra bởi tình trạng khẩn cấp của trình hình chữa bệnh. Các phân tử và chế phẩm theo sáng chế ưu tiên là vô trùng. Các phương pháp để làm cho các phân tử và chế phẩm vô trùng là đã biết trong lĩnh vực. Các phân tử khác hữu dụng trong chẩn đoán, phòng bệnh và/hoặc điều trị có thể được cho dùng trong phác đồ phân liều tương tự như đề xuất cho các phân tử liên kết theo sáng chế. Nếu các phân tử khác được cho dùng độc lập, chúng có thể được cho người bệnh dùng trước (ví dụ, 2 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ, 16 giờ, 18 giờ, 20 giờ, 22 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 2 tuần, 4 tuần hoặc 6 tuần trước), đồng thời, hoặc sau (ví dụ, 2 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ, 16 giờ, 18 giờ, 20 giờ, 22 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 2 tuần, 4 tuần hoặc 6 tuần sau) cho dùng một hoặc nhiều phân tử liên kết ở người hoặc chế phẩm được theo sáng chế. Phác đồ phân liều chính xác thường loại ra trong thử lâm sàng ở người bệnh là người.

Các phân tử liên kết ở người và các chế phẩm được chứa các phân tử liên kết ở người là đặc biệt hữu dụng, và thường được ưu tiên, khi được cho dùng cho người làm tác nhân chữa bệnh *in vivo*, vì đáp ứng miễn dịch của người nhận đối với kháng thể cho dùng sẽ thường cơ bản thấp hơn gây ra bởi cho dùng phân tử liên kết chuột đơn dòng, thể khảm hoặc nhân hoá.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng các phân tử liên kết như làm trung hòa các kháng thể đơn dòng ở người (các đoạn chức năng và các biến thể của

chúng), tiếp hợp miễn dịch, các phân tử axit nucleic, hợp phần hoặc chế phẩm được theo sáng chế để điều chế thuốc dùng để chẩn đoán, phòng bệnh, điều trị, hoặc kết hợp của chúng, nhiễm virus cúm cụ thể là nhiễm virus cúm gây ra bởi các virus cúm B.

Tiếp theo đó, kit bao gồm ít nhất phân tử liên kết như kháng thể đơn dòng ở người làm trung hòa (các đoạn chức năng và các biến thể của chúng), ít nhất tiếp hợp miễn dịch, ít nhất phân tử axit nucleic, ít nhất hợp phần, ít nhất chế phẩm được, ít nhất vector, ít nhất vật chủ theo sáng chế hoặc kết hợp của chúng cũng là một khía cạnh của sáng chế. Tùy chọn, các thành phần được mô tả ở trên của kit theo sáng chế được đóng gói trong hộp thích hợp và được dán nhãn cho chẩn đoán, phòng bệnh và/hoặc điều trị các tình trạng được chỉ định. Các thành phần được mô tả ở trên có thể được lưu trữ trong một đơn vị hoặc hộp đa liều như dung dịch nước, ưu tiên là vô trùng, hoặc là chế phẩm hoàn nguyên đông khô, ưu tiên là vô trùng. Các hộp có thể được làm từ các vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo và có thể có cổng tiếp cận vô trùng (ví dụ, hộp có thể là túi dung dịch dùng trong tĩnh mạch hoặc lọ có phần chặn có thể chọc qua bằng kim tiêm dưới da). Kit có thể còn bao gồm nhiều hộp chứa đệm được dùng. Kit có thể còn bao gồm các vật liệu khác theo thị trường và quan điểm người dùng, bao gồm chất đệm, chất pha loãng, chất lọc, kim tiêm, đường rò, môi trường nuôi cấy khác cho một hoặc nhiều vật chủ thích hợp, và, có thể, còn ít nhất một tác nhân chữa bệnh, phòng bệnh hoặc chẩn đoán khác. Kết hợp với kit có thể là các hướng dẫn thường bao gồm các gói sản phẩm chữa bệnh, phòng bệnh hoặc chẩn đoán bán trên thị trường, mà chứa thông tin về ví dụ chỉ định, sử dụng, liều dùng, nhà sản xuất, cách dùng, chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng các sản phẩm chữa bệnh, phòng bệnh hoặc chẩn đoán này.

Các phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể được sử dụng một cách có lợi làm tác nhân chẩn đoán trong phương pháp *in vitro* để phát hiện virus cúm. Do đó, sáng chế còn đề cập đến phương pháp phát hiện virus cúm loại phụ cúm B trong mẫu, trong đó phương pháp bao gồm các bước

(a) xét nghiệm mức kháng nguyên của virus cúm B trong mẫu sinh học sử dụng phân tử liên kết theo sáng chế và/hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế; và

(b) so sánh mức kháng nguyên của virus cúm B được xét nghiệm với mức đối chứng từ đó sự tăng trong mức kháng nguyên của virus cúm B được xét nghiệm so với mức đối chứng kháng nguyên của virus cúm B thể hiện là nhiễm virus cúm B.

Mẫu sinh học có thể là mẫu sinh học bao gồm, nhưng không giới hạn ở máu, huyết thanh, phân, đờm, dịch hắt hơi khẩu hầu, thực rửa phế quản, nước tiểu, mô hoặc vật liệu sinh học khác từ các đối tượng bị lây nhiễm (tiềm năng), hoặc mẫu phi sinh học như nước, đồ uống, v.v. Các đối tượng bị lây nhiễm (tiềm năng) có thể là đối tượng người, nhưng cũng có thể là động vật nghi ngờ là vật mang virus cúm có thể được xét nghiệm sự có mặt của virus bằng cách sử dụng các phân tử liên kết ở người hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế. Mẫu thử có thể ban đầu được thao tác để làm thích hợp với phương pháp phát hiện. Các phương pháp thao tác trong số các loại khác xử lý mẫu thử nghi ngờ có chứa và/hoặc chứa virus theo cách mà virus sẽ được làm tan rã vào các thành phần kháng nguyên như protein, (poly)peptit hoặc đoạn kháng nguyên khác. Ưu tiên là, các phân tử liên kết ở người hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế tiếp xúc với mẫu dưới các điều kiện cho phép hình thành phức chất miễn dịch học giữa các phân tử liên kết ở người và virus hoặc các thành phần kháng nguyên của chúng có thể có mặt trong mẫu. Việc hình thành phức chất miễn dịch học, nếu có, chỉ báo sự có mặt của virus trong mẫu, sau đó được phát hiện và được đo bằng phương pháp thích hợp. Các phương pháp này bao gồm, trong số các loại khác, thử nghiệm miễn dịch liên kết đồng nhất hoặc không đồng nhất, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), ELISA, miễn dịch huỳnh quang, hoá mô miễn dịch, FACS, BIACORE và phân tích thâm Western.

Các kỹ thuật thử nghiệm được ưu tiên, đặc biệt đối với sàng lọc lâm sàng quy mô rộng cho huyết thanh của bệnh nhân và máu và các sản phẩm chiết xuất từ máu là kỹ thuật ELISA và thâm Western. Các thử nghiệm ELISA là được đặc biệt ưu tiên. Để sử dụng làm chất phản ứng trong các thử nghiệm này, các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế thường liên kết với bề mặt bên trong của các giếng vi chuẩn. Các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế may be directly bonded to the microtiter well. Tuy nhiên, liên kết tối đa của các phân tử liên kết hoặc

tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế với các giếng có thể được hoàn thiện bằng cách xử lý trước các giếng với polylysine trước khi thêm các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế. Ngoài ra, các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế có thể liên kết cộng hoá trị bằng các phương pháp đã biết với các giếng. Nhìn chung, các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 µg/ml để bao, mặc dù các lượng cao hơn cũng như thấp hơn cũng có thể được sử dụng. Các mẫu sau đó được thêm vào các giếng được phủ các phân tử liên kết hoặc tiếp hợp miễn dịch theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp chữa bệnh hoặc phòng bệnh nhiễm virus cúm B ở đối tượng, bao gồm cho đối tượng dùng lượng có hiệu quả chữa bệnh hoặc phòng bệnh của các phân tử liên kết, tiếp hợp miễn dịch và/hoặc chế phẩm được theo sáng chế. Theo một số phương án, đối tượng là động vật có vú, ưu tiên là người.

Ngoài ra, các phân tử liên kết theo sáng chế có thể được sử dụng để xác định các cấu trúc đặc hiệu của virus cúm. Các cấu trúc có thể là epitop trên protein và/hoặc polypeptit. Chúng có thể là thẳng, nhưng cũng là cấu trúc và/hoặc cấu hình. Theo một phương án, các cấu trúc có thể được phân tích bằng cách phân tích PEPSCAN (xem trong số các loại khác WO 84/03564, WO 93/09872, Sliotstra và cộng sự, 1996). Tuy ý, thư viện peptit ngẫu nhiên bao gồm peptit từ protein của virus cúm có thể được sàng lọc cho peptit có khả năng liên kết với các phân tử liên kết theo sáng chế.

Sáng chế được minh họa cụ thể hơn bằng các ví dụ và hình vẽ sau đây. Các ví dụ không nhằm làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế theo cách bất kỳ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Xây dựng thư viện trưng bày thực khuẩn thể scFv sử dụng ARN chiết xuất từ các tế bào B trí nhớ.

Máu ngoại vi được lấy từ người hiến máu khỏe mạnh bình thường bằng cách tiêm tĩnh mạch trong ống đựng mẫu chống đông chứa EDTA. Thư viện trưng bày thực khuẩn thể Fv chuỗi đơn thu được như được mô tả trong WO 2008/028946, được kết

hộp ở đây bằng cách viên dẫn. Thư viện thành phẩm được kiểm tra để chèn thường xuyên PCR cụm sử dụng mỗi đặt bên cạnh các vùng VH-VL được chèn (100-150 cụm đơn). Thông thường, hơn 95% các cụm đã thể hiện chèn chiều dài chính xác (xem Bảng 1). Các sản phẩm PCR cụm được sử dụng để phân tích trình tự ADN tiếp theo để kiểm tra biến đổi trình tự và để đánh giá tỷ lệ phần trăm các cụm thể hiện ORF đầy đủ. Tỷ lệ này thường trên 70% (xem Bảng 1). Tần suất đột biến trong các gen V được phân tích. Khoảng 95% của trình tự trong có cấu hình dòng mầm biểu thị quá trình trưởng thành và bao gồm phenotyp trí nhớ của các tế bào B được dùng làm nguồn ARN cho thư viện.

Nghiên cứu phóng đại PCR hai vòng được áp dụng, sử dụng các bộ môi được thể hiện trong WO 2008/028946, để phân lập các vùng VH và VL immunoglobulin từ từ danh mục người hiến tương ứng.

Phóng đại vòng thứ nhất trên cADN tương ứng thu được bảy, sáu và chín sản phẩm của khoảng 650 cặp cơ sở cho các vùng VH, Vkappa và Vlambda, tương ứng. Đối với phóng đại vùng VH tế bào B trí nhớ IgM, mỗi hằng định OCM (Chuỗi nặng hằng định IgM đặc hiệu) được sử dụng kết hợp với OH1 đến OH7. Chương trình tuần hoàn nhiệt đối với các phóng đại vòng thứ nhất là: 2 phút 96°C (bước biến tính), 35 chu trình gồm 30 giây 96°C/ 30 giây 60°C/ 50 giây 72°C, 10 phút 72°C kéo dài cuối cùng và 6°C làm lạnh. Sản phẩm được tải lên và được phân lập từ a 1% agarosa gel sử dụng các cột tách chiết gel (Macherey-Nagel, MN) và được tách rửa trong 50 µl 5 mM Tris-HCl pH 8,0. Mười phần trăm của các sản phẩm vòng thứ nhất (5 µl) được đưa qua phóng đại vòng thứ hai. Các môi này được mở rộng với các vị trí hạn chế cho phép tách dòng định hướng của các vùng VL và VH tương ứng thành vector biểu hiện thực khuẩn thể PDV-C06. Chương trình PCR đối với các phóng đại vòng thứ hai là như sau: 2 phút 96°C (bước biến tính), 30 chu trình gồm 30 giây 96°C/ 30 giây 60°C/ 50 giây 72°C, 10 phút 72°C kéo dài cuối cùng và 6°C làm lạnh. Các sản phẩm vòng thứ hai (~350 cặp cơ sở) đầu tiên được tải lên gel và được chiết từ agarosa như trên. Then các đoạn were pooled theo natural occurrence of J segments found in immunoglobulin

gene sản phẩm, resulting in seven, sáu và chín pools for tương ứng the VH, Vkappa và Vlambda vùng biến đổi as được thể hiện trong Bảng 1 và 2.

Để thu được phân phối bình thường hóa của các trình tự immunoglobulin trong thư viện miễn dịch sáu Vkappa và chín bể chuỗi nhẹ Vlambda được trộn theo các tỷ lệ được đề cập trong Bảng 1. Bể VL cuối cùng đơn (5 µg) được phân giải bằng các enzym hạn chế SalI và NotI, được tải lên và được phân lập từ 1,5% agarose gel (~350 cặp cơ sở) sử dụng cột tách chiết MN và được thắt trong vectơ PDV-C06 cắt SalI-NotI (~5000 cặp cơ sở) như sau: 500ng vectơ PDV-C06, 70 ng VL phần chèn, 5 µl 10X đệm thắt (NEB), 2.5 T4 ADN Ligase (400 U/µl) (NEB), và nước siêu sạch được thêm đến tổng thể tích bằng 50µl (tỷ lệ vectơ so với phần chèn là 1:2). Thắt được thực hiện qua đêm trong bể nước 16°C. Tiếp theo, thể tích được tăng gấp đôi với nước, được chiết bằng thể tích bằng nhau của phenol-cloform-isoamylalcohol (75:24:1) (Invitrogen) sau đó bằng tách chiết cloform (Merck) và được làm kết tủa bằng 1 µl Pellet Paint (Novogen), 10 µl natri axetat (3 M pH 5,0) và 100 µl isopropanol trong 2h ở -20°C. Mẫu thu được được ly tâm tiếp ở 20.000xg trong 30 phút ở 4°C. Kết tủa thu được được rửa bằng 70% ethanol và được ly tâm trong 10 phút ở 20.000xg ở nhiệt độ phòng. Ethanol được loại ra và hạt cầu được làm khô bằng khí trong vài phút và sau đó được hòa tan trong 50 µl chất đệm chứa 10 mM Tris-HCl, pH 8,0. 2 µl hỗn hợp thắt được sử dụng để biến đổi 40 µl TG-1 tế bào năng lực điện (Agilent) trong chậu thủy tinh xung điện 0,1 cm được làm lạnh (Biorad) sử dụng thiết bị Genepulser II (Biorad) thiết lập ở 1,7 kV, 200 Ohm, 25 µF (hằng số thời gian ~4,5 mét giây). Sau khi xung điện, vi khuẩn được xối nước từ chậu thủy tinh với 750 µl môi trường SOC (Invitrogen) chứa 5% (khối lượng/thể tích) glucoza (Sigma) ở 37°C và được chuyển sang ống nuôi cấy đáy tròn 15 ml. 750 µl SOC/glucoza khác được sử dụng để xối nước vi khuẩn gốc từ chậu thủy tinh và được thêm vào ống nuôi cấy. Vi khuẩn được tái sinh bằng cách nuôi cấy trong chính xác một giờ ở 37°C trong tủ nuôi cấy rung ở 220 rpm. Vi khuẩn được biến đổi được trải ra over đĩa petri vuông rộng 240mm (NUNC) chứa 200 ml 2TY aga (16 g/l bacto-trypton, 10 g/l chiết xuất nấm men, 5 g/l NaCl, 15 g/l aga, pH 7,0) được bổ sung 50 µg/ml ampicillin và 5% (khối lượng/thể tích) glucoza (Sigma). Chất pha loãng 1 đến 1000 và

1 đến 10.000 được trải ra nhằm mục đích đếm trên đĩa petri 15 cm chứa cùng môi trường. Quy trình biến đổi được lặp lại liên tiếp hai mươi lần và thư viện hoàn chỉnh được trải ra trên tổng số mười đĩa petri vuông rộng và nuôi lớn qua đêm trong lò nuôi cấy 37°C. Thông thường, khoảng 1×10^7 cfu thu được bằng cách sử dụng quy trình trên. Thư viện chuỗi nhẹ VL trung gian được thu từ các tấm bằng cách đập nhẹ vi khuẩn vào 12 ml 2TY môi trường mỗi tấm. Khối tế bào như được xác định bởi phương pháp đo OD600 và hai lần 500 OD vi khuẩn được sử dụng để điều chế AND plasmit maxi sử dụng hai cột maxiprep (MN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Tương tự với VL vùng biến đổi, các sản phẩm VH-JH vòng thứ hai trước tiên được trộn cùng nhau để thu được phân phối sử dụng đoạn J bình thường (xem Bảng 2), tạo ra bể phụ 7 VH gọi là PH1 đến PH7. Các bể được trộn để thu được phân phối trình tự bình thường hóa sử dụng các phần trăm được mô tả trong Bảng 2, thu được một mảnh VH được phân giải bằng các enzym hạn chế SfiI và XhoI và được thất trong thư viện trung gian PDV-VL cắt SfiI-XhoI thu được như mô tả ở trên. Thiết lập thất, phương pháp tinh chế, biến đổi tiếp theo của TG1 và thu hoạch vi khuẩn là chính xác như mô tả đối với thư viện trung gian VL (xem ở trên), ngoại trừ nhiều tấm 240 mm được sử dụng. Đối với thư viện cuối cùng hai mươi tấm được dùng, tạo ra khoảng 2×10^7 cfu. Thư viện cuối cùng được kiểm tra đối với tần suất chèn với PCR cụm sử dụng môi đặt bên cạnh các vùng VH-VL được chèn (100-150 cụm đơn). Thông thường, hơn 95% các cụm thể hiện chèn chiều dài chính xác (xem Bảng 3). Các sản phẩm PCR cụm được sử dụng để phân tích trình tự ADN tiếp theo để kiểm tra biến đổi trình tự và để đánh giá tỷ lệ phần trăm các cụm thể hiện ORF đầy đủ. Tỷ lệ này thường trên 70% (xem Bảng 3). Tần suất đột biến trong các gen V được phân tích. Khoảng 95% of trình tự không có cấu hình dòng mầm biểu thị quá trình trưởng thành và bao gồm phenotyp trí nhớ của các tế bào B được dùng làm nguồn ARN cho thư viện. Cuối cùng, thư viện được giải thoát và phóng đại bằng cách sử dụng các thực khuẩn thể giúp đỡ CT (xem WO 02/103012) và được sử dụng cho lựa chọn kháng thể thực khuẩn thể bằng các phương pháp đãi mẫu như được mô tả dưới đây.

Ví dụ 2

Lựa chọn thực khuẩn thể mang các đoạn fv chuỗi đơn kháng cúm b.

Lựa chọn được thực hiện sử dụng thư viện trung bày thực khuẩn thể kháng thể kháng hemagglutinin tái tổ hợp (HA) của cúm B (B/Ohio/01/2005, B/Florida/04/2006 và B/Brisbane/60/2008). Kháng nguyên HA được pha loãng trong PBS (5.0 µg/ml), được thêm vào các Ống MaxiSorp™ Nunc-Immuno (Nunc), 2 ml mỗi ống, và được ủ qua đêm ở 4°C trên bánh xe quay. ống miễn dịch làm rỗng và rửa ba lần bằng chất đệm phong bế (2% non-fat dry milk (ELK) in PBS). Tiếp theo, ống miễn dịch được đổ đầy hoàn toàn bằng chất đệm phong bế và được ủ trong 1-2 h ở nhiệt độ phòng. Các phần phân ước của thư viện trung bày thực khuẩn thể (350-500 µl, được phóng đại sử dụng thực khuẩn thể trợ giúp CT (xem WO 02/103012)) được phong bế trong chất đệm phong bế (tùy chọn: bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò bất hoạt không nhiệt và 2% huyết thanh chuột) for 1-2 hrs ở nhiệt độ phòng. Thư viện thực khuẩn thể phong bế được thêm vào ống miễn dịch, được ủ trong 2h ở nhiệt độ phòng, và rửa bằng chất đệm rửa (0,05% (thể tích/thể tích) Tween-20 trong PBS) để loại ra thực khuẩn thể không liên kết. Thực khuẩn thể liên kết được tách rửa từ kháng nguyên tương ứng bằng cách ủ với 1 ml triethylamin 100 mM (TEA) trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, thực khuẩn thể được tách rửa được trộn với 0,5 ml Tris-HCl 1 M pH 7,5 để trung hòa độ pH. Hỗn hợp được sử dụng để gây nhiễm 5 ml nuôi cấy XL1- Xanh *E.coli* được nuôi lớn ở 37°C đến OD 600 nm xấp xỉ 0,3. Thể thực khuẩn được cho lây nhiễm vi khuẩn XL1-Xanh trong 30 phút ở 37°C. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm trong 10 phút ở 3000xg ở nhiệt độ phòng và chậu thủy tinh vi khuẩn được tạo huyền phù lại trong 0,5 ml môi trường chiết xuất men 2-trypton (2TY). Huyền phù vi khuẩn thu được được chia trên hai tấm aga 2TY được thêm tetracyclin, ampicilin và glucoza. Sau khi ủ qua đêm các tấm ở 37°C, các cụm được cạo khỏi các tấm và được dùng để tạo ra thư viện thực khuẩn thể làm giàu, chủ yếu như mô tả bởi De Kruif và cộng sự (1995a) và trong WO 02/103012. Tóm lại, vi khuẩn cạo ra được sử dụng để chủng ngừa môi trường 2TY chứa ampicilin, tetracyclin và glucoza và được nuôi lớn ở nhiệt độ bằng 37°C đến OD

600 nm bằng ~0,3. Các thực khuẩn thể giúp đỡ CT được thêm vào và cho lây nhiễm vi khuẩn sau đó môi trường được đổi thành -2TY chứa ampixilin, tetracyclin và kanamycin. Tiếp tục ủ qua đêm ở 30°C. Ngày tiếp theo, vi khuẩn được loại bỏ khỏi môi trường 2TY bằng cách ly tâm sau đó thực khuẩn thể trong môi trường được làm kết tủa sử dụng polyethylen glycol (PEG) 6000/NaCl. Cuối cùng, thực khuẩn thể được hòa tan trong 2 ml PBS với 1% albumin huyết thanh bò (BSA), được lọc vô trùng và được dùng cho vòng tiếp theo của lựa chọn. Vòng thứ hai của lựa chọn được thực hiện hoặc là trên cùng loại phụ HA hoặc trên HA của loại phụ khác.

Tiến hành hai vòng chọn lọc liên tiếp trước khi phân lập kháng thể chuỗi đơn của thực khuẩn thể tách biệt. Sau vòng chọn lọc thứ hai, các dòng *E. coli* tách biệt được sử dụng để tạo ra kháng thể đơn dòng của thực khuẩn thể. Cơ bản là, các cụm riêng lẻ được nuôi lớn đến giai đoạn logarit trong định dạng tấm 96 giếng và được gây nhiễm bằng các thực khuẩn thể giúp đỡ VCS-M13 sau khi chế phẩm kháng thể thực khuẩn thể được cho thực hiện qua đêm. Dịch nổi chứa các kháng thể thực khuẩn thể được sử dụng trực tiếp trong ELISA để liên kết với kháng nguyên HA. Tuy ý, các kháng thể thực khuẩn thể được làm kết tủa PEG/NaCl và lọc vô trùng cho cả ELISA và phân tích đếm dòng tế bào (thường được thực hiện với các hệ vô tính dương tính trong ELISA).

Ví dụ 3

Sự biến thể của kháng thể chuỗi đơn đặc hiệu ha của thực khuẩn thể

Dịch nổi được chọn lọc chứa kháng thể chuỗi đơn của thực khuẩn thể mà thu được trong quá trình sàng lọc được mô tả trên đây được công nhận về tính đặc hiệu trong thử nghiệm ELISA, tức là liên kết với các kháng nguyên HA khác nhau. Nhằm mục đích này, HA của cúm B tái tổ hợp biểu hiện baculovirus (B/Ohio/01/2005, B/Malaysia/2506/2004, B/Jilin/20/2003, B/Brisbane/60/2008 và B/Florida/04/2006) (Protein Sciences, CT, USA) được bao (0.5 µg/ml) lên các tấm Maxisorp™ ELISA. Sau khi bao, các tấm được rửa ba lần bằng PBS chứa 0,1% thể tích/thể tích Tween-20 và được phong bế trong PBS chứa ELK 2% trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Kháng thể

chuỗi đơn của thực khuẩn thể được chọn được ủ trong 1 giờ trong thể tích bằng nhau của PBS chứa ELK 4% để thu được các kháng thể thực khuẩn thể được phong bế. Các tấm được làm sạch, rửa ba lần bằng PBS/0,1% Tween-20 và kháng thể chuỗi đơn của thực khuẩn thể được phong bế được thêm vào các giếng. Thực hiện ủ trong một giờ; các tấm được rửa năm lần bằng PBS/0,1% Tween-20. Các kháng thể thực khuẩn thể liên kết được phát hiện (sử dụng cách đo OD 492nm) sử dụng kháng thể liên hợp kháng M13 với peroxidaza. Về đối chứng, quy trình được thực hiện đồng thời không có kháng thể thực khuẩn thể chuỗi đơn và với kháng thể thực khuẩn thể chuỗi đơn đối chứng âm không xử lý.

Từ các lựa chọn trên các kháng nguyên HA khác nhau với thư viện miễn dịch, mười bốn kháng thể chuỗi đơn đơn nhất của thực khuẩn thể đặc hiệu cho HA cúm B tương tự Yamagata và Victoria được thu (sc08-031, sc08-032, sc08-033, sc08-034, sc08-035, sc08-059, sc10-023, sc10-032, sc10-049, sc10-051, sc11-035, sc11-036, sc11-038 và sc11-039). Xem Bảng 4.

Mười bốn này các kháng thể thực khuẩn thể được sử dụng để xây dựng immunoglobulin người đầy đủ cho đặc trưng khác (xem Ví dụ 4).

Ví dụ 4

Xây dựng các phân tử immunoglobulin ở người đầy đủ (các kháng thể đơn dòng ở người) từ Fvs chuỗi đơn được chọn

Từ kháng thể chuỗi đơn đặc hiệu được chọn của dòng vô tính thực khuẩn thể (scFv), ADN plasmit được thu và trình tự nucleotit được xác định bằng các kỹ thuật trình tự chuẩn. Tương đồng gen VH và VL của scFvs được xác định (xem Bảng 5) sử dụng trang tra cứu IMGT/V-QUEST (Brochet, và cộng sự (2008)).

Vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) của scFvs được tách dòng bằng cách phân giải giới hạn (SfiI/XhoI) để biểu hiện trong vector biểu hiện IgG pIg-C911-HCgamma1, được phân giải bằng các enzym giống nhau. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) cũng được tách dòng thành vector biểu hiện thiết kế IgG pIG-C909-Ckappa, hoặc pIg-C910-

Clambda sử dụng SalI/NotI cho đoạn trơ và XhoI/NotI cho vector đích, như được mô tả trước đây trong WO 2008/028946.

Để loại bỏ vị trí khởi đầu tiềm năng trong một trong số các kháng thể (CR8059), kháng thể đột biến axit amin đơn (CR8071) được tạo ra bằng PCR kết hợp. Hai đoạn PCR xếp chồng mà mỗi đoạn chứa đột biến mong muốn được tạo ra. Các đoạn này được trộn ở các tỷ lệ đẳng mol và dùng làm mẫu PCR vòng thứ hai để thu được trình tự LC chiều dài đủ. Trình tự nucleotit cho tất cả các cấu trúc được kiểm tra bằng các kỹ thuật trình tự chuẩn. Các cấu trúc biểu hiện thu được mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ IgG1 của người được biểu hiện tạm thời cùng nhau trong các tế bào HEK293T. Sau một tuần, dịch nổi chứa các kháng thể IgG1 của người được thu và xử lý bằng các quy trình tinh chế tiêu chuẩn. Các kháng thể IgG1 của người được chuẩn độ ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10 đến 0,003 $\mu\text{g/ml}$ kháng kháng nguyên HA của cúm B (dữ liệu không được thể hiện). Kháng thể không liên quan được bao gồm là kháng thể đối chứng.

Trình tự axit amin của các CDR của cả hai, chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, của các phân tử immunoglobulin lựa chọn được cho trong Bảng 5. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được cho dưới đây.

Ví dụ 5

Hoạt tính phản ứng liên kết chéo của iggs kháng cúm b

Các kháng thể kháng cúm B được chọn được dùng để thử độ lớn của liên kết bằng phân tích FACS. Nhằm mục đích này, các vector biểu hiện cúm B tái tổ hợp chiều dài đầy đủ mã hóa đối với HA (B/Mississippi/04/2008, B/Houston/B60/1997, B/Nashville/45/1991, B/Florida/01/2009, B/Mississippi/07/2008 và B/Ohio/01/2005) được chuyển nhiễm vào các tế bào PER.C6[®] bằng cách sử dụng lipofectamin (Invitrogen) với tỷ lệ 1 phần 5. 48 giờ sau khi chuyển nhiễm, các tế bào PER.C6[®] biểu hiện HA của cúm B trên bề mặt được phân tích bằng FACS (CantoII, BD bioscience). Theo đó các tế bào được ủ bằng các kháng thể IgG trong 1 giờ sau đó bằng ba bước rửa liên tiếp với PBS chứa 0,1%BSA. Các kháng thể liên kết được phát hiện bằng cách sử

dụng kháng thể kháng người thứ cấp liên hợp PE mà cũng được ủ trong 1 giờ. Đối với đối chứng âm, các tế bào không chuyển nhiễm PER.C6® được sử dụng và được ủ với kháng thể thứ cấp. Các kết quả FACS cho thấy rằng các kháng thể liên kết cúm B CR8033, CR8059, CR8071, CR10032 và CR10051 thể hiện liên kết với cả sáu HA của cúm B thử nghiệm (Bảng 6).

Ví dụ 6

Tính cạnh tranh để liên kết với ha của iggs kháng cúm b phản ứng chéo

các kháng thể IgG kháng cúm B được mô tả ở trên có tác dụng đối với tính cạnh tranh cho epitop trên Ha của cúm B. Từ đó, B/Brisbane/60/2008, B/Florida/04/2006 và B/Jillin/20/2003 được ghi nhãn với biotin sử dụng kit EZ-link Sulpho-NHS-LC-LC-biotin (Pierce). 1 µl of the 10 mM dung dịch biotin được thêm vào 110 µg HA tái tổ hợp, giới hạn phân tử gấp sáu lần biotin, và được ủ trong 30 đến 40 phút ở nhiệt độ phòng. The free unincorporated biotin được loại ra bằng cách sử dụng lọc ly tâm Amicon Ultra (0,5 ml, màng 10K Ultracel-10K; Millipore, cat#: UFC501096). Theo đó mẫu thử (300 µl) được tải lên cột và quay trong 10 phút ở 14000 RPM trong máy ly tâm mặt hàn Eppendorf (20800 rcf). Máng chảy được loại ra và 0,4 ml chất đệm DPBS được tải lên cột và quay lại. Bước này được lặp lại hai lần. Mẫu thử ghi nhãn được tái sinh bằng cách quay mặt trên cột xuống vào trong ống thu mới; sau đó 200 µl DPBS được tải và quay trong 1 phút ở 1000 rpm trong máy ly tâm mặt hàn. Nồng độ HA được đo bằng cách sử dụng thiết bị Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific).

Thử nghiệm tính cạnh tranh thực tế đã hoàn thành trên thiết bị giao thoa lớp sinh học Octet-QK (ForteBio) theo cài đặt trong Bảng 7 sử dụng bộ cảm biến sinh học phủ streptavidin (ForteBio, cat# 18-5019) mà được làm ướt trước trong 30 phút trong chất đệm động học ở nhiệt độ phòng. Khi kháng thể thứ hai có khả năng liên kết HA của cúm B với sự có mặt của chất thứ nhất, điều này được coi là không cạnh tranh (xem Bảng 8). Về các đối chứng, kháng thể liên kết gốc CR9114 (như được mô tả trong đơn đang xét nghiệm EP11173953.8) và kháng thể không liên kết CR8057 (như được mô tả trong WO2010/130636) được sử dụng.

Các kháng thể CR10023 và CR10049 cạnh tranh đối với liên kết CR8033. Các kháng thể CR10032 và CR10051 cạnh tranh đối với liên kết với CR8059. Kháng thể CR10049 cạnh tranh đối với liên kết với CR10032. None of the tested các kháng thể cạnh tranh với kháng thể liên kết gốc CR9114. Các kết quả này chỉ ra sự cốt mặt của ít nhất ba đến bốn epitop khác nhau trên HA cúm B (Fig. 1).

Ví dụ 7

Hoạt tính trung hòa chéo của IgGs

Để xác định xem các IgG chọn lọc có khả năng phong bế chủng cúm B đa, thử nghiệm trung hòa virus in vitro (VNAs) được thực hiện. VNAs được thực hiện trên các tế bào MDCK (ATCC CCL-34) được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK (môi trường MEM được bổ sung 20 mM Hepes và 0,15% (khối lượng/thể tích) natri bicarbonat (môi trường MEM đầy đủ), được bổ sung 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bò). Các chủng cúm B tương tự Yamagata (B/Harbin/7/1994 và B/Florida/04/2006) và tương tự Victoria (B/Malaysia/2506/2004 và B/Brisbane/60/2008) được sử dụng trong thử nghiệm đều được pha loãng đến độ chuẩn bằng $5,7 \times 10^3$ TCID₅₀/ml (50% liều lây nhiễm nuôi cấy mô mỗi ml), với độ chuẩn được tính toán theo phương pháp của Spearman và Karber. Chế phẩm IgG (100 µg/ml) được pha loãng liên tiếp 2 lần (1:2 - 1:512) trong môi trường MEM đầy đủ lặp lại trong 4 giếng. 50µl chất pha loãng IgG tương ứng được trộn với 50µl huyền phù virus (100 TCID₅₀/35µl) và được ủ trong một giờ ở 37°C. Huyền phù sau đó được chuyển thành bốn bản sao vào tám 96 giếng chứa nuôi cấy MDCK hội lưu trong 100µl môi trường MEM đầy đủ. Trước khi sử dụng, các tế bào MDCK được nuôi cấy ở 2×10^4 tế bào mỗi giếng trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK, nuôi lớn đến khi các tế bào đạt hội lưu, rửa bằng 300-350 µl PBS, pH 7.4 và cuối cùng 100µl môi trường MEM đầy đủ được thêm vào mỗi giếng. Các tế bào tiêm chủng được nuôi cấy trong 3 - 4 ngày ở 37°C và quan sát hàng ngày đối với sự phát triển của hiệu quả tạo hiệu ứng bệnh lý (CPE). CPE được so với đối chứng dương.

CR8032, CR8033, CR8034, CR8035, CR8059, CR8071, CR10023, CR10032, CR10049, CR10051, CR11035, CR11036, CR11038 và CR11039 đều thể hiện hoạt tính trung hòa chéo đối với các chủng đại diện của cả, chủng virus cúm B tương tự Yamagata và Victoria. Xem Bảng 9.

Ví dụ 8

Hoạt tính phong bế liên kết thụ thể của các IgG

Để xác định xem các IgG được chọn có khả năng phong bế liên kết trung gian thụ thể của chủng virus cúm B với các tế bào chủ hay không, thử nghiệm ức chế kết dính hồng cầu (HI) được thực hiện. Các chủng virus tương tự Yamagata (B/Harbin/7/1994 và B/Florida/04/2006) và tương tự Victoria (B/Malaysia/2506/2004 và B/Brisbane/60/2008) được pha loãng đến 8 đơn vị HA, như được xác định trong thử nghiệm HAU, và kết hợp với thể tích bằng nhau IgG được pha loãng theo dãy và được ủ trong 1 h ở nhiệt độ phòng. Thể tích bằng nhau của các tế bào máu đỏ Thỏ Nhĩ Kỳ 0,5% (TRBC) được thêm vào các giếng và tiếp tục ủ trong 30 phút. Button formation được tính điểm là minh chứng của kết dính hồng cầu.

CR8059, CR8071, CR10032, CR10051 và CR11036 không thể hiện hoạt tính HI đối với bất kỳ trong số các chủng virus cúm B được thử nghiệm ($>10 \mu\text{g/ml}$ đối với CR11036, $> 50 \mu\text{g/ml}$ đối với các kháng thể khác), cho thấy rằng chúng không phong bế liên kết thụ thể. Các kháng thể CR8033 và CR10023 thể hiện hoạt tính HI với các chủng đại diện chỉ của các chủng virus cúm B tương tự Yamagata, mà không với các chủng virus cúm B tương tự Victoria. Kháng thể CR11035 thể hiện hoạt tính HI với các chủng đại diện chỉ của các chủng virus cúm B Victoria tương tự, mà không với các chủng virus cúm B tương tự Yamagata. Các kháng thể CR10049, CR11038 và CR11039 thể hiện hoạt tính HI với các chủng đại diện của cả hai chủng virus cúm B tương tự Yamagata và Victoria. Xem Bảng 10.

Tuỳ ý, thử nghiệm xâm nhập miễn dịch huỳnh quang được thiết kế để phân tích khả năng của kháng thể được cho với liên kết thụ thể khối và thu nhận virus. Do đó, virus được ủ trước với kháng thể theo dãy, các bước pha loãng hai lần trước khi thêm

vào lớp đơn nhập dòng của các tế bào MDCK được trải trong đĩa 96 giếng trong môi trường lây nhiễm (DMEM+200mM glutamin) trong hai hoặc ba giờ. Chất chủng ngừa được loại tiếp và được thay bằng kháng thể ở các nồng độ chỉ ra trong 16 – 18 h ở 37 °C, 5% CO₂. Sau thời gian này, dịch nổi được loại bỏ và các tấm được ngưng kết trong axeton 80% để phát hiện huỳnh quang miễn dịch tiếp theo bằng cách ghi nhãn các tế bào lây nhiễm sử dụng kháng thể ban đầu kháng NP đơn dòng của chuột (Santa Cruz, sc-52027) và kháng thể thứ cấp kháng chuột ghép đôi Alexa488 (Invitrogen A11017) sau đó bằng ghi nhãn DAPI của nhân tế bào (xem Fig. 2a). Như được thấy ở thử nghiệm HI, kháng thể CR8033 phong bế đặc hiệu đường vào virus của virus tương tự Yamagata B/Florida/04/2006 nhưng không phong bế virus tương tự Victoria B/Malaysia/2506/2004. Kháng thể CR8059 không phong bế đường vào của các virus cúm B được thử nghiệm. Một số tấm được phân tích tiếp sử dụng BD Pathway 855 bioimager. Để đánh giá mức độ ức chế đường vào, mật độ huỳnh quang cho mỗi giếng được cho ở trên như được xác định trong lĩnh vực và lượng các tế bào lây nhiễm (sử dụng chủng DAPI để xác định tế bào) được phân tích bằng cách sử dụng công cụ phân tích hình ảnh BD Pathway. Tỷ lệ phần trăm các tế bào lây nhiễm được xử lý bằng các chất pha loãng được chỉ định của kháng thể so với các tế bào lây nhiễm được xử lý bằng kháng thể đối chứng không liên kết được thể hiện trên Fig. 2b.

Ví dụ 9

Ức chế đường ra của IgGs kháng-HA

Để kiểm tra cơ chế hoạt động của kháng thể, thử nghiệm đường ra được thiết kế để phân tích lượng phân tử virus được giải phóng vào dịch nổi 18 h sau khi lây nhiễm dưới các điều kiện điều trị kháng thể. Việc phát hiện (hoặc vắng mặt) tín hiệu kháng-HA sau điện di trên gel sau đó bằng thăm Western các dịch nổi này được lấy làm dấu hiệu của sự có mặt (vắng mặt) của các phân tử virus được giải phóng.

Bốn giờ trước thử nghiệm, 40,000 Các tế bào MDCK mỗi giếng được nuôi cấy trong DMEM/glutamin vào tấm 96-giếng. Lượng virus cần để được 90-100% lây nhiễm được chuẩn độ trong thử nghiệm riêng. Lượng virus yêu cầu được thêm vào các

tế bào và được ủ ở 37 °C, 5% CO₂. Sau ba giờ, dịch nổi được loại bỏ và các tế bào được rửa ba lần bằng PBS để loại bỏ các phân tử virus không nội hóa. Các tế bào được làm đầy với môi trường lây nhiễm chứa mAbs (chất pha loãng theo dãy bắt đầu ở 20µg/ml). Sau 16 – 18 giờ ở 37 °C, 5% CO₂, dịch nổi được thu và các tế bào còn lại được dung giải (Tris HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 1% (thể tích/thể tích) Triton-X). Các mẫu được đưa qua SDS-PAGE/thấm Western để phân tích lượng hạt virus được giải phóng vào dịch nổi được đo bằng cách phát triển WB bằng cách nhuộm kháng HA đa dòng ở thỏ (Protein Sciences) sau đó bằng đoạn HRP-đôi kháng thỏ F(ab')₂- (Jackson Immuno Research Laboratories, 111-036-047). Như được thể hiện trong Fig 3, cả các kháng thể CR8033 và CR8059 ức chế giải phóng phân tử virus theo cách phụ thuộc nồng độ. Các thử nghiệm khác đã thể hiện ít nhất CR8071 và CR10051 cũng ức chế giải phóng phân tử virus.

Lây nhiễm đúng cách các tế bào được kiểm tra bằng cách ngưng kết các giếng được xử lý giống nhau với axeton 80%. Lượng lây nhiễm được thử nghiệm sử dụng ghi nhãn huỳnh quang miễn dịch sử dụng kháng thể ban đầu kháng NP đơn dòng của chuột (Santa Cruz, sc-52027) và kháng thể thứ cấp kháng chuột ghép đôi Alexa488 (Invitrogen A11017). Các tấm được phân tích tiếp sử dụng BD Pathway 855 bioimager (kết quả không được thể hiện).

Ví dụ 10

Kính hiển vi điện tử quét của các tế bào nhiễm cúm B

Các tế bào MDCK được nuôi cấy trên kính đáy thủy tinh một ngày trước thử nghiệm. Ngày tiếp theo, các tế bào được gây nhiễm với các lượng virus khác nhau để xác định lượng thu được 90 – 100% tế bào nhiễm sau 18 h sau lây nhiễm. Ba giờ sau lây nhiễm ban đầu, dịch nổi được loại bỏ; tế bào được rửa ba lần bằng PBS, trước môi trường chứa nồng độ các kháng thể chỉ ra được thêm vào. Sau 15 – 18 h nữa, môi trường nuôi cấy tế bào được loại ra và tế bào được ngưng kết trong chất đệm glutaraldehyt 2,5% và được lưu trữ ở 4 °C đến khi phân tích thêm </385. Các mẫu được đưa qua ngưng kết hoá học tiếp sử dụng glutaraldehyt (GA) và/hoặc osimi

tetroxid (OsO_4). Trước khi chụp ảnh SEM, các mẫu được đưa qua khử nước axeton và làm khô điểm tới hạn. Cuối cùng, các tế bào được gắn lên mẫu nhôm và được phủ lớp cacbon mỏng và được xét nghiệm dưới kính hiển vi Zeiss Ultra 55 SEM.

Bề mặt của các tế bào MDCK nhiễm cúm B được phủ phân tử hình cầu mật độ điện tử (Fig. 4b), ngược lại với các đối chứng không lây nhiễm (Fig. 4a). Ủ với kháng thể CR8059 không ngăn ngừa được sự hình thành các phân tử hình cầu này (Fig. 4c) trong khi đó ủ với kháng thể CR8033 giảm đáng kể sự hình thành các phân tử (Fig. 4d). Ngược lại với các tế bào được ủ CR8059, các hạt virus nảy chồi không thể dễ dàng phát hiện được trên tế bào ủ CR8033 (Fig. 4e và f).

Ví dụ 11

Hoạt tính phòng bệnh của các kháng thể đơn dòng IgG ở người kháng lại thử thách gây chết của virus cúm B *in vivo*

Nghiên cứu được thực hiện để thử nghiệm hiệu quả phòng bệnh của các kháng thể đơn dòng CR8033 và CR8071 kháng lại thử thách gây chết với hai virus cúm B *in vivo*. MAbs CR8033 và CR8071 được thử nghiệm về hiệu quả phòng bệnh trong mẫu thử thách gây chết ở chuột với chuột được làm thích hợp với virus cúm B/Florida/04/2006. Virus B/Florida/04/2006 được điều chỉnh với chuột sau 5 đường truyền phổi đến phổi. Chuột được điều chỉnh virus 5 chuyển cúm B được truyền trong trứng gà có phổi. Tất cả chuột (Balb/c, con gái, 6-8 tuần tuổi, $n=8$ mỗi nhóm) được làm thích nghi và duy trì trong khoảng thời gian bằng ít nhất bốn ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. MAbs CR8033 và CR8071 được cho liều ở 0,06, 0,2, 0,6, 1,7, và 5 mg/kg trong tĩnh mạch vào tĩnh mạch đuôi (*tĩnh mạch cơ cụt*) ở ngày -1 trước thử thách, giả sử khối lượng trung bình bằng 18 g mỗi chuột và thể tích liều cố định bằng 0,2 ml. Nhóm đối chứng được cho liều cùng với đối chứng chất dẫn thuốc. Sau đó chuột được thử thách ở ngày 0 với 25 LD_{50} Virus cúm B B/Florida/04/2006 được điều chỉnh ở chuột bằng cách chũng ngừa trong mũi. Fig 5 thể hiện tỷ lệ chuột sống sót, sau đó cho dùng mAb. Chuột được cho liều với phân liều thấp bằng 0,2 mg/kg đối với CR8033 và

0,6 mg/kg đối với CR8071 thể hiện tỷ lệ sống cao hơn đáng kể so với động vật đối chứng được xử lý bằng chất dẫn thuốc.

Tuỳ ý, mAbs CR8033 và CR8071 được thử nghiệm về hiệu quả phòng bệnh trong mẫu thử thách gây chết ở chuột với virus cúm B/Malaysia/2506/2004 được điều chỉnh ở chuột. Virus cúm B/Malaysia/2506/2004 được điều chỉnh với chuột sau 4 đường truyền từ phổi đến phổi. Virus 4 đường truyền cúm B được điều chỉnh ở chuột được truyền trong trứng gà có phôi. Tất cả chuột (Balb/c, con cái, 6-8 tuần tuổi, n=8 mỗi nhóm) được làm thích nghi và duy trì trong khoảng thời gian bằng ít nhất bốn ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. MAbs CR8033 và CR8071 được cho liều ở 0,06, 0,2, 0,6, 1,7 và 5 mg/kg trong tĩnh mạch trong tĩnh mạch đuôi (tĩnh mạch cơ cụt) ở ngày -1 trước thử thách, giả sử khối lượng trung bình bằng 18 g mỗi chuột và thể tích liều cố định bằng 0,2 ml. Nhóm đối chứng được cho liều cùng với đối chứng chất dẫn thuốc. Sau đó chuột được thử thách ở ngày 0 với 25 LD₅₀ virus cúm B B/Malaysia/2506/2004 được điều chỉnh ở chuột bằng cách chũng ngừa trong mũi. Fig. 5 thể hiện tỷ lệ chuột sống sót, sau đó cho dùng mAb. Chuột được cho liều với phân liều thấp bằng 0,2 mg/kg đối với CR8033 và 0,6 mg/kg đối với CR8071 thể hiện tỷ lệ sống cao hơn đáng kể so với động vật đối chứng được xử lý bằng chất dẫn thuốc.

Các kết quả này thể hiện các kháng thể kháng cúm ở người CR8033 và CR8071, được xác định và phát triển như được bộc lộ ở đây, có khả năng đề xuất bảo vệ *in vivo* kháng lại liều gây chết của các virus cúm B của cả hai dòng B/Yamagata và B/Victorias khi cho dùng một ngày trước khi cho nhiễm ở liều bằng hoặc cao hơn 0,2 hoặc 0,6 mg/kg, tương ứng.

Bảng 1: Tổng quát phóng đại các vùng VL vòng thứ hai

Mẫu	Môi 5'	Môi 3'	Sản phẩm	Phần trong PK/PL(%)	Bể	Phần trong VL (%)
K1	OK1S	OJK1	K1J1	25	PK1	30
	OK1S	OJK2	K1J2	25		
	OK1S	OJK3	K1J3	10		
	OK1S	OJK4	K1J4	25		
	OK1S	OJK5	K1J5	15		
K2	OK2S	OJK1	K2J1	25	PK2	4
	OK2S	OJK2	K2J2	25		
	OK2S	OJK3	K2J3	10		
	OK2S	OJK4	K2J4	25		
	OK2S	OJK5	K2J5	15		
K3	OK3S	OJK1	K3J1	25	PK3	1
	OK3S	OJK2	K3J2	25		
	OK3S	OJK3	K3J3	10		
	OK3S	OJK4	K3J4	25		
	OK3S	OJK5	K3J5	15		
K4	OK4S	OJK1	K4J1	25	PK4	19
	OK4S	OJK2	K4J2	25		
	OK4S	OJK3	K4J3	10		
	OK4S	OJK4	K4J4	25		
	OK4S	OJK5	K4J5	15		
K5	OK5S	OJK1	K5J1	25	PK5	1
	OK5S	OJK2	K5J2	25		
	OK5S	OJK3	K5J3	10		
	OK5S	OJK4	K5J4	25		
	OK5S	OJK5	K5J5	15		
K6	OK6S	OJK1	K6J1	25	PK6	5
	OK6S	OJK2	K6J2	25		
	OK6S	OJK3	K6J3	10		
	OK6S	OJK4	K6J4	25		
	OK6S	OJK5	K6J5	15		
L1	OL1S	OJL1	L1J1	30	PL1	14
	OL1S	OJL2	L1J2	60		
	OL1S	OJL3	L1J3	10		
L2	OL2S	OJL1	L2J1	30	PL2	10
	OL2S	OJL2	L2J2	60		

	OL2S	OJL3	L2J3	10		
L3	OL3S	OJL1	L3J1	30	PL3	10
	OL3S	OJL2	L3J2	60		
	OL3S	OJL3	L3J3	10		
L4	OL4S	OJL1	L4J1	30	PL4	1
	OL4S	OJL2	L4J2	60		
	OL4S	OJL3	L4J3	10		
L5	OL5S	OJL1	L5J1	30	PL5	1
	OL5S	OJL2	L5J2	60		
	OL5S	OJL3	L5J3	10		
L6	OL6S	OJL1	L6J1	30	PL6	1
	OL6S	OJL2	L6J2	60		
	OL6S	OJL3	L6J3	10		
	OL7S	OJL1	L7J1	30		
L7	OL7S	OJL2	L7J2	60	PL7	1
	OL7S	OJL3	L7J3	10		
	OL8S	OJL1	L8J1	30		
L8	OL8S	OJL2	L8J2	60	PL8	1
	OL8S	OJL3	L8J3	10		
	OL9S	OJL1	L9J1	30		
L9	OL9S	OJL2	L9J2	60	PL9	1
	OL9S	OJL3	L9J3	10		
					VL	100%

Bảng 2: Tổng quát phóng đại các vùng VH vòng thứ hai

Mẫu	Môi 5'	Môi 3'	Sản phẩm	Phần trong PK/PL (%)	Pool	Phần trong VH (%)
H1	OH1S	OJH1	H1J1	10	PH1	25
	OH1S	OJH2	H1J2	10		
	OH1S	OJH3	H1J3	60		
	OH1S	OJH4	H1J4	20		
H2	OH2S	OJH1	H2J1	10	PH2	2
	OH2S	OJH2	H2J2	10		
	OH2S	OJH3	H2J3	60		
	OH2S	OJH4	H2J4	20		
H3	OH3S	OJH1	H3J1	10	PH3	25
	OH3S	OJH2	H3J2	10		
	OH3S	OJH3	H3J3	60		
	OH3S	OJH4	H3J4	20		
H4	OH4S	OJH1	H4J1	10	PH4	25
	OH4S	OJH2	H4J2	10		
	OH4S	OJH3	H4J3	60		
	OH4S	OJH4	H4J4	20		
H5	OH5S	OJH1	H5J1	10	PH5	2
	OH5S	OJH2	H5J2	10		
	OH5S	OJH3	H5J3	60		
	OH5S	OJH4	H5J4	20		
H6	OH6S	OJH1	H6J1	10	PH6	20
	OH6S	OJH2	H6J2	10		
	OH6S	OJH3	H6J3	60		
	OH6S	OJH4	H6J4	20		
H7	OH7S	OJH1	H7J1	10	PH7	1
	OH7S	OJH2	H7J2	10		
	OH7S	OJH3	H7J3	60		
	OH7S	OJH4	H7J4	20		
					VH	100%

Bảng 3: Các đặc tính của các thư viện tế bào B trí nhớ IgM riêng biệt.

Thư viện	Các tế bào được dùng	Kích thước thư viện	Orf nguyên vẹn
MEM-05-M08	540.000 tế bào trí nhớ Facs IgM đã phân cấp từ 1 người hiến	5.9E+07	
MEM-05-M09	775.000 tế bào trí nhớ Facs IgM đã phân cấp từ 1 người hiến	2.35E+07	
MEM-05-M10	700.000 tế bào trí nhớ Facs IgM đã phân cấp từ 1 người hiến	1.7E+07	
Flu-PBMC-09-M02	1E+07 tổng PBMC từ 1 người hiến	1.0E+07	75%
Flu-tế bào B-09-M03	280.000 Macs các tế bào B được phân cấp từ 1 người hiến	2.0E+07	76%
Flu-MEM-09-M08	800.000 tế bào trí nhớ IgM Facs đã phân cấp từ 1 người hiến	2.4E+07	85%
Flu-PBMC-10-M03	3E+07 tổng PBMC từ 3 người hiến (1E+07 PBMC's per người hiến)	2.8E+07	82%
Flu-PBMC-10-M04	3E+07 tổng PBMC từ 3 người hiến (1E+07 PBMC's per người hiến)	3.1E+07	87%
Flu-PBMC-10-M05	3E+07 tổng PBMC từ 3 người hiến (1E+07 PBMC mỗi người hiến)	3.3E+07	89%
Flu-PBMC-11-G01	4E+07 tổng PBMC từ 4 người hiến (1E+07 PBMC mỗi người hiến)	>1E+07	82%

Bảng 4: Liên kết của các thực khuẩn thể scFv với HA cúm B tái tổ hợp

	Yamagata		Victoria		
	B/Jilin/20/03	B/Florida/04/06	B/Malaysia/2506/04	B/ohio/01/05	B/Brisbane/60/08
sc08-031	++	nt	++	++	nt
sc08-032	++	nt	++	++	nt
sc08-033	++	++	++	+++	++
sc08-034	++	nt	++	++	nt
sc08-035	++	nt	++	++	nt
sc08-059	++	++	++	++	++
sc10-023	++	++	+	++	+
sc10-032	+++	+++	++	+++	+++
sc10-049	+++	+++	+++	+++	+++
sc10-051	+++	+++	+++	+++	+++
sc11-035	nt	+++	nt	++	++
sc11-036	nt	+++	nt	+++	+++
sc11-038	nt	++	nt	++	+++
sc11-039	nt	+++	nt	++	+++

liên kết
 +++ mạnh
 ++ liên kết
 liên kết
 + yếu
 không liên
 - kết
 không
 nt được thử

Bảng 5A: Trình tự axit amin của HC CDRs của các kháng thể được chọn

CR #	VH locus	CDR1-HC (SEQ ID NO)	CDR2-HC(SEQ ID NO)	CDR3-HC (SEQ ID NO)
CR8033	IGHV3-9*01	GFSFDEYT (1)	INWKGNFM (2)	AKDRLESSAMDILEGGTFDI (3)
CR8059	IGHV1-18*01	GYIFTESG (7)	ISGYSGDT (8)	ARDVQYSGSYLGAYYFDY (9)
CR8071	IGHV1-18*01	GYIFTESG (7)	ISGYSGDT (8)	ARDVQYSGSYLGAYYFDY (9)
CR10023	IGHV3-9*01	GFTFDDYA (14)	INWVSTTM (15)	AKDRLESAAIDILEGGTFDI (16)
CR10032	IGHV4-39*02	GG SINSSPYK (20)	FYYDGST (21)	AA YCSSISCHAYYDYMNV (22)
CR10049	IGHV3-23*04	GFTFSSYA (26)	LSDESTT (27)	AEDLGTVMDSYYYGMNV (28)
CR10051	IGHV1-46*01	GDTFTNYH (31)	INPSGGDT (32)	ATDESPGLLTGLRDYWYYYGMDV (33)
CR11024	IGHV1-2*02	GYSFTGYG (35)	INPISGDT (36)	ARVAGEDWFGDLDY (37)
CR11035	IGHV1-18*01	GYAFNGYG (40)	INTYKVNT (41)	ARDWGGPFGNAFDF (42)
CR11036	IGHV1-46*01	GYAFTSYY (45)	MNLHGGST (46)	ARESPDSSGYPGYYGMDV (47)
CR11038	IGHV1-46*01	GYAFTSYY (45)	MNPHGGST (50)	ARESPDSSGYPGYYGMDV (47)
CR11039	GHV1-18*01	GYAFTGYG (54)	INTYKFNT (55)	ARDWAGPFGNAFDV (56)
CR08031	IGHV3-9*01	GFTFDEYI (59)	INWKGNFM (2)	AKDRLESSAMDILEGGTFDI (3)
CR08032	IGHV3-9*01	GFSFDEYI (61)	INWKGNFM (2)	AKDRLESSAMDILEGGTFDI (3)
CR08034	IGHV3-9*01	GFTFDEYI (59)	INWKGNFM (2)	AKDRLESSAMDILEGGTFDI (3)
CR08035	IGHV3-9*01	GFTFDEYI (59)	INWKGNFM (2)	AKDRLESSAMDILEGGTFDI (3)

Bảng 5B Trình tự axit amin của LC CDRs của các kháng thể được chọn

CR #	VL locus	CDR1-LC (SEQ ID NO)	CDR2-LC(SEQ ID NO)	CDR3-LC (SEQ ID NO)
CR8033	IGKV3-20*01	QSVSSSY (4)	GAS (5)	QQYGSSPWT (6)
CR8059	IGLV1-47*01	SSNIGTNY (10)	RSY (11)	ATWDDSLNGWV (12)
CR8071	IGLV1-47*01	SSNIGTNY (10)	RSY (11)	ATWDDSLDGWV (13)
CR10023	IGLV2-8*01	SSDVGGYNY (17)	DVS (18)	SSYASGSTYV (19)
CR10032	IGKV2-28*01	QSLRHENGYNY (23)	LGS (24)	MQALTQTLT (25)
CR10049	IGKV2-28*01	QSLLSNGLNY (29)	LGS (24)	MQALQTPFT (30)
CR10051	IGKV3-20*01	QSVSSSY (4)	GAS (5)	QQYGSSPLCS (34)
CR11024	IGKV3-20*01	QSVSSSY (4)	GTS (38)	QQYGSSPRT (39)
CR11035	IGKV1-39*01	QSVGSY (43)	GAS (5)	QQSYSTPRT (44)
CR11036	IGKV3-20*01	QSVSSDF (48)	GTS (38)	QQYGSSTWT (49)
CR11038	IGLV1-44*01	RSNIGSNP (51)	TND (52)	AAWDDSLKGWV (53)
CR11039	GHV1-18*01	QDISDY (57)	GAS (5)	QQYGNLPPT (58)
CR08031	IGLV2-14*01	SSDVGGYNY (17)	DVS (18)	SSYTSSSTHV (60)
CR08032	IGLV2-14*01	RRDVGDYKY (62)	DVS (18)	SSYTTSNTRV (63)
CR08034	IGKV1-17*01	QGIRND (64)	AAS (65)	QQANTYPLT (66)
CR08035	IGLV3-19*01	SLRSYY (67)	GKN (68)	DSRDSSGTHYV (69)

Bảng 6: Liên kết của IgG tinh chế với tế bào biểu hiện HA cúm B

	Yamagata			Victoria		
	Nasvile/45/91	Mississippi/04/08	Houston/B0/97	Mississippi/07/08	Florida/01/09	Ohio/01/05
CR8031	++	NT	NT	NT	-	NT
CR8032	+++	+	NT	++	-	NT
CR8033	++	++	++	++	++	++
CR8034	++	NT	NT	NT	-	NT
CR8035	+++	+	+++	+	-	++
CR8059	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CR8071	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CR10023	+++	-	+++	-	-	-
CR10032	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CR10049	+	-	+	-	-	+
CR10051	++	++	++	++	++	++

+++ liên kết mạnh
 ++ liên kết
 + liên kết yếu
 - không liên kết

Bảng 7: Thử nghiệm tính cạnh tranh của bộ tám bản mẫu in

	Bước				
	Đường cơ sở 1	Tải HA	Đường cơ sở 2	Kết hợp thứ 1 </2485 IgG (15 ug/ml)	Kết hợp / tính cạnh tranh thứ 2 </2489 IgG (15 ug/ml)
Thời gian (giây)	60	1200	60	700	700
Dòng A	Chất đệm động lực	HA cúm B ghi nhãn Biotin 10 ug/ml	Chất đệm động lực	CR8033	CR8033 Trong phép đo thứ 2 </2535 CR8059 v.v
Dòng B				CR8059	
Dòng C				CR10023	
Dòng D				CR10032	
Dòng E				CR10049	
Dòng F				CR10051	
Dòng G				CR9114*	
Dòng I				CR8057*	

* các kháng thể đối chứng (CR9114: liên kết, CR8057 không liên kết)

Bảng 8: Thử nghiệm tính cạnh tranh trên HA cúm B

	CR803 3	CR805 9	CR100 23	CR100 32	CR100 49	CR100 51	CR911 4	CR805 7
CR803 3	X	N	Y	N	Y	N	N	N
CR805 9	N	X	N	Y	N	Y	N	N
CR100 23	Y	N	X	Y	Y	N	N	N
CR100 32	N	Y	Y	X	Y	Y	N	N
CR100 49	Y	N	Y	N	X	N	N	N
CR100 51	N	Y	N	Y	N	X	N	N
CR911 4	N	N	N	N	N	N	X	N
CR805 7	-	-	-	-	-	-	-	-

Y: cạnh tranh; N: không cạnh tranh; X: tự cạnh tranh; -: Không liên kết

Bảng 9: Thử nghiệm trung hòa virus ở các chủng virus cúm B

VNA	Yamagata		Victoria	
chuẩn độ trong $\mu\text{g/ml}$	B/Harbin/7/199 4	B/Florida/04/200 6	B/Malaysia/2506/200 4	B/Brisbane/60/200 8
CR8031	1,24	0,88	>50*	NT
CR8032	0,69	0,69	3,88*	NT
CR8033	0,03	0,02	0,88*	5,95
CR8034	0,29	0,12	2,31*	NT
CR8035	0,66	0,66	4,46*	NT
CR8059	2,39	3,23	17,68*	4,55
CR8071	2,34	2,12	14,87*	3,72
CR10023	0,26	$\leq 0,55$	12,5*	7,07
CR10032	12,5	21,02	53,03*	35,36
CR10049	4,42	1,3	25*	35,36
CR10051	0,28	0,63	1,77*	1,51
CR11035	0,16	$\leq 0,06$	0,53*	0,93
CR11036	0,02	$\leq 0,06$	0,22*	$\leq 0,14$
CR11038	0,05	$\leq 0,06$	2,1*	0,55
CR11039	0,02	$\leq 0,06$	0,06*	$\leq 0,14$

NT: không được thử

* thử nghiệm được thực hiện với 25TCIDs

Bảng 10: Thử nghiệm ức chế ngưng kết hồng cầu ở các chủng virus cúm B

HI	Yamagata		Victoria	
chuẩn độ trong µg/ml	B/Harbin/7/199 4	B/Florida/04/20 06	B/Malaysia/2506/20 04	B/Brisbane/60/20 08
CR8033	0,39	0,22	>50	>50
CR8059	>50	>50	>50	>50
CR8071	>50	>50	>50	>50
CR10023	1,1	1,56	>50	>50
CR10032	>50	>50	>50	>50
CR10049	>50	1,1	4,42	35,36
CR10051	>50	>50	>50	>50
CR11035	NT	>10	NT	0,26
CR11036	NT	>10	NT	>10
CR11038	NT	1,25	NT	0,31
CR11039	NT	0,63	NT	0,44

NT: không được thử

CÁC TRÌNH TỰ

>SC08-033 VH DNA (SEQ ID NO: 70).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
 TGTCTGTGCAGCCTCTGGATTGAGCTTTGATGAGTACACCATGCATTGGGTCCGGCA
 AGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGAGGTATTAATTGGAAAGGTAATTTTCATG
 GGTTATGCGGACTCTGTCCAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGGCAAGAACT
 CCCTCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGC
 AAAAGACCGGCTGGAGAGTTCAGCTATGGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGATATC
 TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC

>SC08-033 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 71).

EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFSFDEYTMHWVRQAPGKGLEWVAGINWKG NFM
 GYADSVQGRFTISRDNKGKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRLESSAMDILEGGTFDI
 WGQGTMTVT

>SC08-033 VL DNA (SEQ ID NO: 72).

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
 CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA
 GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGT
 ATCCCAGCCAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCA
 GACTGGAGCCTGAAGATCTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGTG
 GACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

>SC08-033 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 73).

EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATG
 IPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDLAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK

>SC08-059 VH DNA (SEQ ID NO: 74) .

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAGGG
TCTCCTGCAGGGCCTCTGGTTACATCTTTACCGAATCTGGTATCACCTGGGTGCGCCA
GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGGTTACAGTGGTGACACA
AAATATGCACAGAACTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAAAGACACATCCACGACCA
CAGCCTACATGGAATTGAGGAGCCTGAGATATGACGACACGGCCGTATATTACTGTGC
GAGAGACGTCCAGTACAGTGGGAGTTATTTGGGCGCCTACTACTTTGACTATTGGAGC
CCGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

>SC08-059 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 75) .

EVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQAPGQGLEWMGWISGYSGDT
KYAQKLQGRVTMTKDTSTTTAYMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWS
PGTLVTVSS

>SC08-059 VL DNA (SEQ ID NO: 76) .

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCA
TCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAACTAATTATGTATACTGGTACCAGCA
GTTCCCAGGAACGGCCCCCAAACCTCCTCATCTATAGGAGTTATCAGCGGCCCTCAGGG
GTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCTCCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTG
GGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAACATGGGATGACAGCCTGAA
TGGTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG

>SC08-059 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 77

SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNYVYWYQQFPGTAPKLLIYRSYQRP
VPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCATWDDSLNGWVFGGGTKLTVL

>CR08071 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 78

QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCRASGYIFTESGITWVRQAPGQGLEWMGWISGYSGDT
KYAQKLQGRVTMTKDTSTTTAYMELRSLRYDDTAVYYCARDVQYSGSYLGAYYFDYWS
PGTLVTVSS

>CR08071 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 79).

QSVLTQPPSASGTPGQRVITISCSGSSSNIGTNYVYWYQQFPGTAPKLLIYRSYQRPSG
VPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCATWDDSLD**D**GWVFGGGTKLTVLRK

>SC10-051 VH DNA (SEQ ID NO: 80).

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTAGAAC
TTTCCTGCAAGGCATCTGGAGACACCTTCACCAACTACCATATACACTGGGTGCGACA
GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAATCCTAGTGGTGGTGACACA
GACTACTCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCCTGACCAGGGACAGGTCCACAAACA
CATTCTATATGAAGTTGGCCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGC
GACAGATGAGAGTCCCGGACTTTTGACTGGCCTTCGGGATTACTGGTACTACTACGGT
ATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGGTCACCGTCTCGAG

>SC10-051 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 81).

EVQLVQSGAEVKKPGASVELSCKASGDTFTNYHIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGDT
DYSQKFQGRVTLTTRDRSTNTFYMKLASLRSEDTAVYYCATDESPGLLTGLRDYWYYYG
MDVWGQGTTVTVS

>SC10-051 VL DNA (SEQ ID NO: 82).

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA
GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGC
ATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCA
GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCT
GTGCAGTTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC

>SC10-051 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 83).

EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLCSFGQGTKLEIK

>SC10-049 VH DNA (SEQ ID NO: 84).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGAC
TCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCA
GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCACGTCTTAGTGATGAAAGTACCACATAC
TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACAC
TGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAAAGCCGACGACACGGCCATATATTACTGTGCGGA
GGATCTGGGGACGGTGATGGACTCCTACTACTACGGTATGAACGTCTGGGGCCCAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCGAG

> SC10-049 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 85).

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRLSDESTTY
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKADDTAIYYCAEDLGTVMDSYYYGMNVWGPG
TTVTVS

>SC10-049 VL DNA (SEQ ID NO: 86).

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT
CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGACTCAATTATTTGGA
TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAAT
CGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC
TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCT
ACAAACTCCTTTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC

>SC10-049 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 87).

DVVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGLNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN
RASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPFTFGGGTKVEIK

>SC10-023 VH DNA (SEQ ID NO: 88).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
TCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCATTGGGTCCGGCA
AGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGGTTAGTACTACCATG
GGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT
CCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGC
AAAAGATAGGCTGGAGAGTGCAGCTATAGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGATATC
AGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGCG

>SC10-023 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 89).

EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWVSTTM
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRLESAAIDILEGGTFDI
RGQGTMTVTVSS

>SC10-023 VL DNA (SEQ ID NO: 90).

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGCTCTCCTGGACAGTCAGTCACCA
TCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGATGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCA
ACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACATCATGATTTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCA
GGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGGTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCT
CTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGAATATTACTGCAGCTCATATGCAAGCGGCAG
CACTTATGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC10-023 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 91).

QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSKRPS
GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAEYYCSSYASGSTYVFGTGTKVTVL

>SC10-032 VH DNA (SEQ ID NO: 92).

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGGCACCCTGTCCC
TCACCTGCAATGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGTAGTCCCTATAAGTGGGCCTGGAT

CCGCCAGTCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGACTTTCTATTATGATGGGAGC
 ACCGACTACAACCCGTCCCTCCAGAGTCGACTCACCATTTCGGGAGACATGTCCAGTA
 ACCACTTCTCCTTGAGGCTGAGGTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTACTG
 TGCGGCCTATTGTAGTAGTATAAGCTGCCATGCCTATTACGACTACATGAACGTCTGG
 GGCAAAGGGACCACGGTCACCGTCTCGAGC

>SC10-032 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 93).

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCNVSGGSINSSPYKWAWIRQSPGKGLEWIGTFYYDGS
 TDYNPSLQSRILTISGDMSSNHFSRLRLRSVTAADTAVYYCAAYCSSISCHAYYDYMNVW
 GKGTTVTVSS

>SC10-032 VL DNA (SEQ ID NO: 94).

GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT
 CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCGACATGAGAATGGATACAACTATTTGGA
 TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATGTATTTGGGTTCTGTT
 CGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC
 TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCT
 ACAAACGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC

>SC10-032 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 95).

EIVLTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLRHENGYNYLDWYLQKPGQSPQLLMYLGSV
 RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTLTFGGGTKLEIK

>SC11-024 VH DNA (SEQ ID NO: 96).

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAAATTAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG
 TCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGCGACA
 GGCCCCTGGACAAGGACCTGAGTGGATGGGGCGGATCAACCCTATCAGTGGTGACACA
 AACTATGCACAGAGGTTTCAGGGCAGGGTCACCTTGACCAGGGACAGGTCCACCAGCA
 CAGCCTACATGGAGCTGAGCGGGCTGAAATCTGACGACACGGCCGTATATTTCTGTGC

GAGAGTCGCGGGTGAAGATTGGTTCGGGGATCTTGACTATTGGGGCCAGGGAACCCCTG
GTCACCGTCTCGAGCG

>SC11-24 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 97).

EVQLVQSGAEIKKPGASVKVSCKASGYSFTGYIMHWVRQAPGQGPEWMGRINPISGDT
NYAQRFCQGRVTLTRDRSTSTAYMELSLKSDDTAVYFCARVAGEDWFGDLDYWGQGT
LTVSS

>SC11-024 VL DNA (SEQ ID NO: 98).

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA
GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTTTGGAACATCCAGCAGGGCCACTGGC
ATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCA
GGCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCG
GACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC

>SC11-024 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 99).

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIFGTSSRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPRTFGQGTKVEIK

>SC11-035 VH DNA (SEQ ID NO: 100).

CAGGTGCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCCTCGGTGAAGG
TCTCCTGCAAGACCTCTGGTTACGCCTTTAACGGCTACGGTATCAGCTGGGTGCGACA
GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGGTGGCATGGATCAACACTTACAAAGTTAACACA
CATTATGCACAGAATCTCCGGGGCAGGGTCACCGTGAGCATAGACACATCCACGACCA
CAGCCTATATGGAAGTGGAGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTCTATTACTGTGC
GAGAGACTGGGGTGGGCCGTTTGGGAACGCTTTTGATTTCTGGGGCCAAGGGACAATG
GTCACCGTCTCGAGCG

>SC11-035 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 101).

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKTSGYAFNGYGISWVRQAPGQGLEWVAVINTYKVNT
HYAQNLGRVTVSIDTSTTTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDWGGPFGNAFDWGGQGM
VTVSS

>SC11-035 VL DNA (SEQ ID NO: 102).

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGCATCTATAGGAGACAGTGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCGTTGGCTCTTACTTAAATTGGTATCAGCAAAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGTTGTTGATCTATGGTGCATCCAATGTGCAAAGTGGGGTC
CCATCAAGGTTTGTAGTGGCAGTGAGTCTGGGACAGAGTCCACACTCACCATCAACAATC
TGCAGCCTGAAGATTCTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTAGAAC
GTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

>SC11-035 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 103).

DIQMTQSPSSLAASIGDSVTITCRASQSVGSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNVQSGV
PSRFSGSESGTESTLTINNLPEDSATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIK

>SC11-036 VH DNA (SEQ ID NO: 104).

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGACGG
TTTCCTGCAAGGCATCTGGATACGCCTTCACCAGCTACTATTTACACTGGGTGCGACA
GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGATAATGAATCTTCATGGTGGTAGCACA
ACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGGA
CAGTTTACATGGAGCTGAGCGGCCTGAGATCTGAGGACTCGGCCGTATATTACTGTGC
CCGAGAGAGTCCCGATAGCAGTGGTTATCCTGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGC
CAGGGGACCACGGTCACCGTCTCGAGC

>SC11-036 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 105).

EVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYAFTSYYLHWVRQAPGQGLEWMGIMNLHGGST
 TYAQKFQGRVTMTRDTSTRTVYMELSGLRSEDSAVYYCARESPDSSGYPGYYGMDVWG
 QGTTVTVSS

>SC11-036 VL DNA (SEQ ID NO: 106).

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
 CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCGACTTCTTCGCCTGGTACCAGCA
 GAAACGTGGCCAGACTCCCACCCTCCTCATCTATGGTACATCCACCAGGGCCACTGGC
 ATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACACTCAGCGTCGCCA
 GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCGACGTG
 GACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

>SC11-036 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 107).

EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSDFFAWYQQKRGQTPLLIYGTSTRATG
 IPDRFSGSGSGTDFTLSVARLEPEDEFAVYYCQQYGSSTWTFGQGTKVEIK

>SC11-038 VH DNA (SEQ ID NO: 108).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGG
 TTTCTGCAAGGCATCTGGATACGCCTTCACCAGCTACTATTTGCACTGGGTGCGACA
 GGCCCTGGAACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGATAATGAACCCTCATGGTGGTAGCACA
 ACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCA
 CAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGC
 CCGAGAGAGTCCCGATAGTAGTGGTTATCCTGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGC
 CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCGAGC

>SC11-038 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 109).

EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSYYLHWVRQAPGQGLEWMGIMNPHGGST
 TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARESPDSSGYPGYYGMDVWG
 QGTTVTVSS

>SC11-038 VL DNA (SEQ ID NO: 110).

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCA
TGTCTTGTTCTGGAAGCAGATCCAACATCGGATCTAATCCTGTAAGCTGGTTCCAGCA
ACTCCCGGGAATGGTCCCCAACTCCTCATCTATACTAATGATCAGCGGCCCTCAGGG
GTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCCCCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTG
GGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAA
AGGTTGGGTGTTCTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG

>SC11-038 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 111).

SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGSRSNIGSNPVSWFQQLPGMVPKLLIYTNDQRPSG
VPDRFSGSKSGPSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLKGWVFGGGTKLTVL

>SC11-039 VH DNA (SEQ ID NO: 112).

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTGTGAAGA
TCTCCTGTAAGACTTCTGGTTACGCCTTTACCGGCTACGGTATCAGCTGGGTGCGACA
GGCCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACACTTACAAATTTAACACA
AATTATGCACAGAACCTGCAGGGCAGAGTCACCATGACCATAGACACATCCACGAGCG
CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATATGAGGACACGGCCGTATATTTCTGTGC
GAGAGACTGGGCTGGGCCGTTTGGGAATGCTTTTGTATGTCTGGGGCCAGGGGACAATG
GTCACCGTCTCGAGCG

>SC11-039 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 113).

EVQLVQSGAEVKKPGESVKISCKTSGYAFTGYGISWVRQAPGQGLEWMGWINTYKFNT
NYAQNLQGRVTMTIDTSTSAAYMELRSLRYEDTAVYFCARDWAGPFGNAFDVWGQGTM
VTVSS

>SC11-039 VL DNA (SEQ ID NO: 114).

ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCCTGTCTGCATCTATAGGAGACAGAGTCGC
CATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCGACTATTTAAATTGGTATCAGCAACAA
CCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGCTCTACGGTGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCC
CATCAAGGTTCAAGTGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCT
GCAGCCTGAAGACATTGCAACATATTATTGTCAACAGTATGGTAATCTCCCTCCGACT
TTCGGCGGGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC

>SC11-039 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 115).

IQMTQSPSSLSASIGDRVAITCQASQDISDYLNWYQQQPGKAPKLLLYGASNLETGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYGNLPPTFGGGTKLEIK

>SC09-114 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 116).

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGST
AYAQKFQGRVTISADIFSNAYMELNSLTSEDYAVYFCARHGNYYYYSMDVWGQGT
TVVSS

>SC09-114 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 117).

SYVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRPSV
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTVL

>SC08-031 VH DNA (SEQ ID NO: 118).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
TCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGAGTATATCATGCATTGGGTCCGGCA
AGCTCCCGGGAAGGGCCCGGAATGGGTTCGAGGTATTAATTGGAAAGGTAATTTTCATG
GGTTATGCGGACTCTGTCCAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGT
CCCTCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGACGACACGGCCTTATATTACTGTGC
AAAAGACCGGCTGGAGAGTTTACGCTATGGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGGATATC
TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC

>SC08-031 VH PROTEIN (SEQ ID NO:119)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDEYIMHWVRQAPGKGPEWVAGINWKGNEF
GYADSVQGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRADDTALYYCAKDRLESSAMDILEGGTFDI
WGQGTMTVT

>SC08-031 VL DNA (SEQ ID NO: 120).

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCA
TCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCA
ACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACATCATGATTTATGATGTCAGTAGTCGGCCCTCA
GGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCGACACGGCCTCCCTGAGCATCT
CTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATACAAGCAGCAG
CACTCATGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC08-031 VL PROTEIN (SEQ ID NO:121)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSSRPS
GVSNRFSKSGDTASLSISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTHVFGTGTKVTVL

>SC08-032 VH DNA (SEQ ID NO: 122).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
 TGTCTGTGCAGCCTCTGGATTACAGCTTTGATGAGTACATCATGCATTGGGTCCGGCA
 AGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTTCGAGGTATTAATTGGAAAGGTAATTTTCATG
 GGTTATGCGGACTCTGTCCAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGGCAAGAACT
 CCCTCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGC
 AAAAGACCGGCTGGAGAGTTTACAGCTATGGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGTATATC
 TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGC

>SC08-032 VH PROTEIN (SEQ ID NO:123)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFSFDEYIMHWVRQAPGKGLEWVAGINWKGNEFM
 GYADSVQGRFTISRDNKGNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRLESSAMDILEGGTFDI
 WGQGTMTVTVSS

>SC08-032 VL DNA (SEQ ID NO: 124).

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCA
 TCTCCTGCACTGGAACCCGCAGGGACGTTGGTGATTATAAGTATGTCTCCTGGTACCA
 ACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAACATCATGATTTATGATGTCAGTAATCGGCCCTCA
 GGGGTCTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCACGGCCTCCCTGACCATCT
 CTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTATTGCAGTTCATACACAACCAGCAA
 CACTCGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAG

>SC08-032 VL PROTEIN (SEQ ID NO:125)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTRRDVGDYKYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPS
 GVSNRFSKSGTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTSNTRVFGGGTKLTVL

>SC08-034 VH DNA (SEQ ID NO: 126).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
 TCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGAGTATATCATGCATTGGGTCCGGCA
 AGCTCCCGGGAAGGGCCCGGAATGGGTTCGAGGTATTAATTGGAAAGGTAATTTTCATG
 GGTTATGCGGACTCTGTCCAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT

CCCTCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGACGACACGGCCTTATATTACTGTGC
AAAAGACCGGCTGGAGAGTTCAGCTATGGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGATATC
TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGC

>SC08-034 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 127).

EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDEYIMHWVRQAPGKGPEWVAGINWKG NFM
GYADSVQGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRADDTALYYCAKDRLESSAMDILEGGTFDI
WGQGTMTVTVSS

>SC08-034 VL DNA (SEQ ID NO: 128).

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCA
CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTC
CCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACACTTATCCACTCAC
TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC

>SC08-034 VL PROTEIN (SEQ ID NO:129)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANTYPLTFGGGTKLEIK

>SC08-035 VH DNA (SEQ ID NO: 130).

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGAC
TCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGAGTATATCATGCATTGGGTCCGGCA
AGCTCCCGGGAAGGGCCCGGAATGGGTTCGAGGTATTAATTGGAAAGGTAATTTTCATG
GGTTATGCGGACTCTGTCCAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA AACT
CCCTCTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGACGACACGGCCTTATATTACTGTGC
AAAAGACCGGCTGGAGAGTTCAGCTATGGACATTCTAGAAGGGGGTACTTTTGATATC
TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGC

>SC08-035 VH PROTEIN (SEQ ID NO: 131).

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDEYIMHWVRQAPGKGPEWVAGINWKGNFM
GYADSVQGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRADDTALYYCAKDRLESSAMDILEGGTFDI
WGQGTMTVSS

>SC08-035 VL DNA (SEQ ID NO: 132).

TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGA
TCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCC
AGGACAGGCCCTGTACTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCA
GACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAAGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTC
AGGCGGAAGATGAGGCTGACTATTATTGTGACTCCCGGGACAGCAGTGGAACCCATTA
TGTCTTCGGAGGTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC08-035 VL PROTEIN (SEQ ID NO: 133).

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIP
DRFSGSSSRNTASLTITGAQAEDEADYYCDSRDSSGTHYVFGGGTKVTVL

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Brochet và cộng sự, Nucl. Acids Res. 36, W503-508 (2008).

De Kruif J và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:3938 (1995).

Kanegae và cộng sự, J. Virol. 64: 2860-2865 (1990).

Kubota-Koketsu và cộng sự, Biochem. Biophys. Res. Comm. 387: 180-185 (2009).

Rota và cộng sự, J. Gen. Virol. 73: 2737-2742 (1992).

Thompson và cộng sự JAMA 289(2): 179-186 (2003).

Thompson và cộng sự, JAMA 292(11): 1333-1340 (2004).

Wrammert và cộng sự, Nature 453: 667-672 (2008).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với hemagglutinin (HA) của các chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata và B/Victoria, và có khả năng làm trung hoà các chủng virus cúm B này của dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria,
 trong đó phân tử liên kết này không liên kết HA của các virus cúm A, và trong đó phân tử liên kết bao gồm chuỗi nặng CDR1 nêu trong SEQ ID NO:7, chuỗi nặng CDR2 nêu trong SEQ ID NO:8, chuỗi nặng CDR3 nêu trong SEQ ID NO:9, chuỗi nhẹ CDR2 nêu trong SEQ ID NO:10, chuỗi nhẹ CDR2 nêu trong SEQ ID NO:11, và chuỗi nhẹ CDR2 nêu trong ID NO:12 hoặc 13.
2. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử này liên kết với vùng đầu của HA của virus cúm B.
3. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa SEQ ID NO:75.
4. Phân tử liên kết theo điểm 3, trong đó phân tử liên kết này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa SEQ ID NO:77.
5. Phân tử liên kết theo điểm 3, trong đó phân tử liên kết này bao gồm:
 vùng biến đổi chuỗi nặng chứa SEQ ID NO:75, và
 vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa SEQ ID NO:77.
6. Phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với hemagglutinin (HA) của chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata và B/Victoria, và có khả năng làm trung hoà chủng virus cúm B của dòng B/Yamagata và/hoặc B/Victoria, nhưng không có khả năng liên kết với HA của virus cúm A, trong đó phân tử liên kết này bao gồm:
 vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có SEQ ID NO:78, và
 vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID NO:79.
7. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này ức chế đường ra của virus cúm B từ các tế bào bị nhiễm.
8. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này là kháng thể được phân tách hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

9. Tiếp hợp miễn dịch bao gồm:
ít nhất một phân tử liên kết theo điểm 1, và
ít nhất một đuôi.
10. Phân tử axit nucleic mã hoá phân tử liên kết được phân lập theo điểm 1.
11. Dược phẩm chứa phân tử liên kết theo điểm 1.
12. Dược phẩm theo điểm 11, dược phẩm này còn bao gồm chất mang hoặc tá dược
dược dụng.
13. Phân tử liên kết theo điểm 2, trong đó phân tử này liên kết với vùng đầu của
HA1 của virut cúm B.

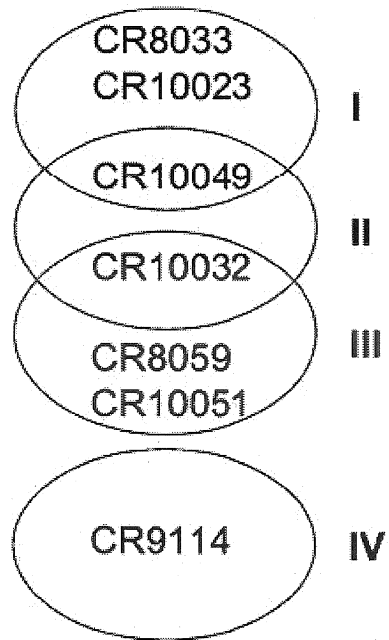
FIG. 1

FIG. 2

A.

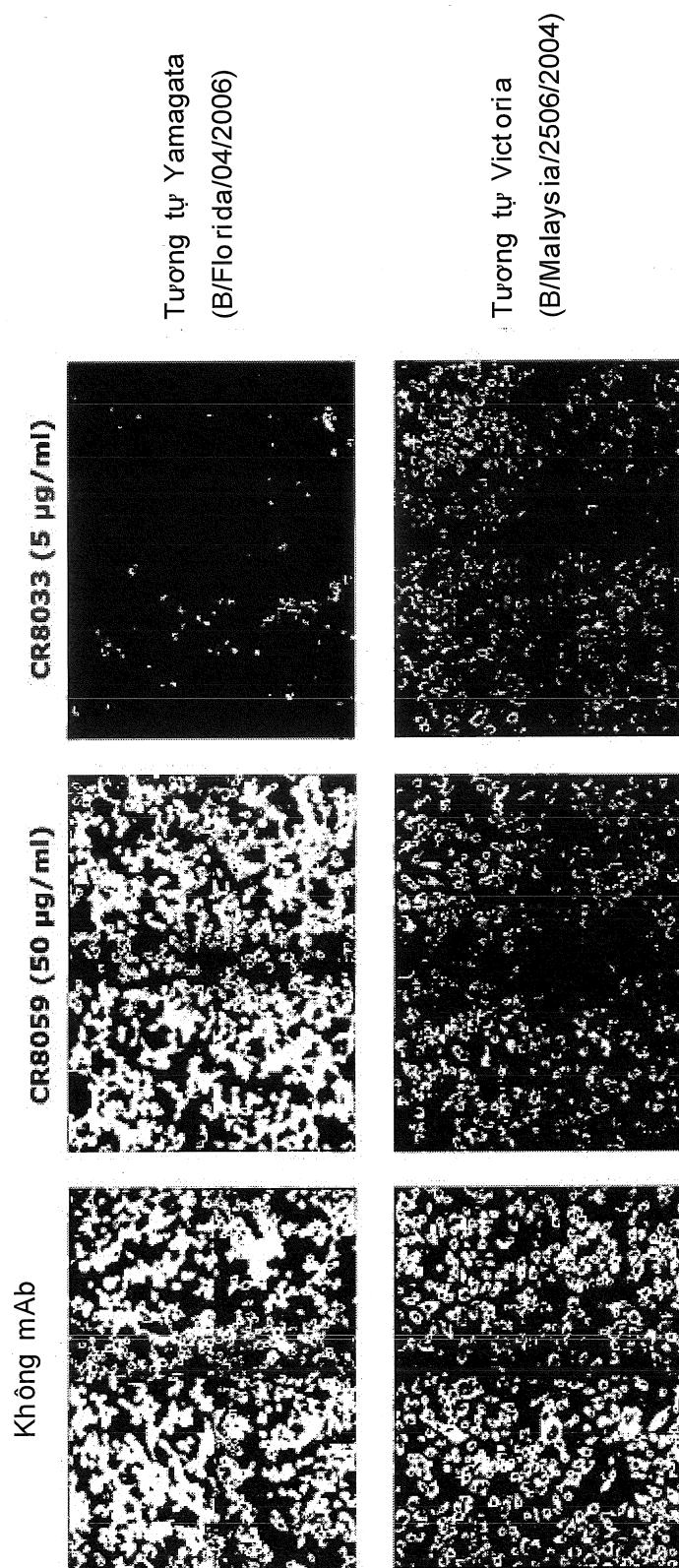


FIG. 2

B.

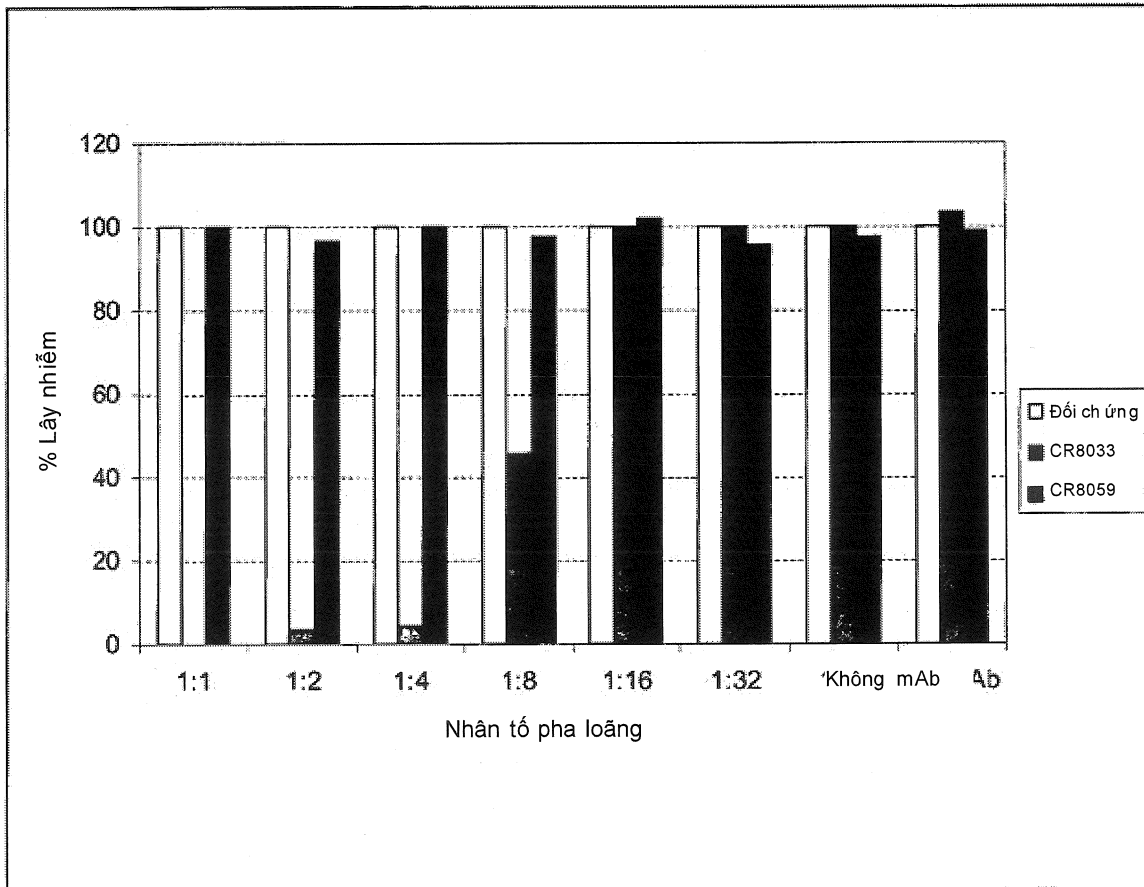


FIG. 3

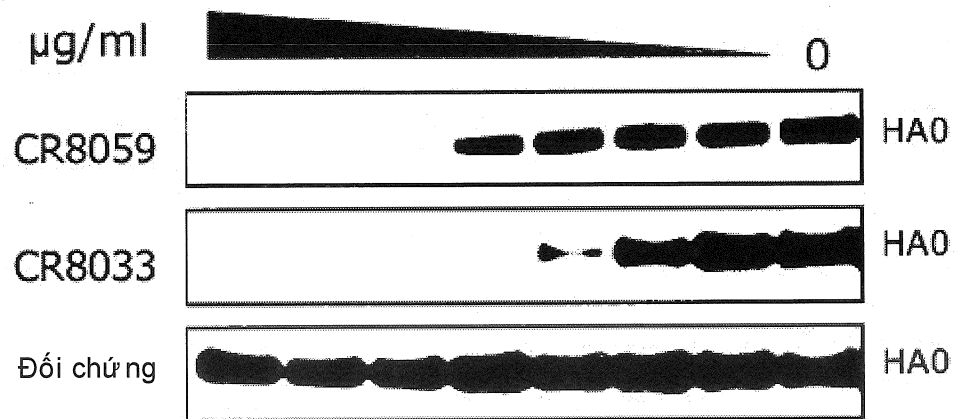
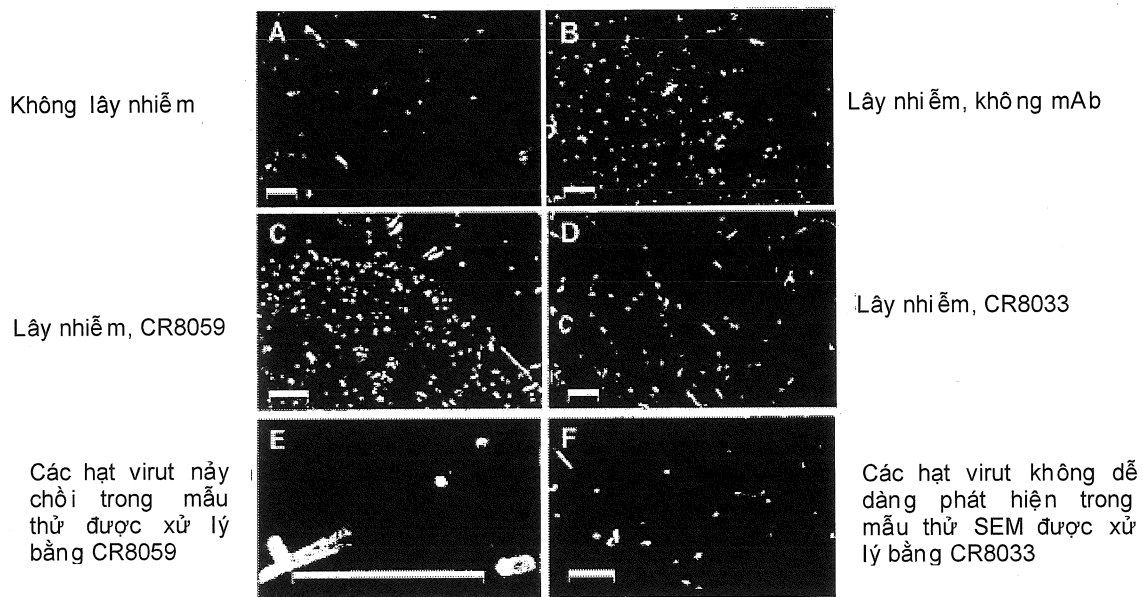
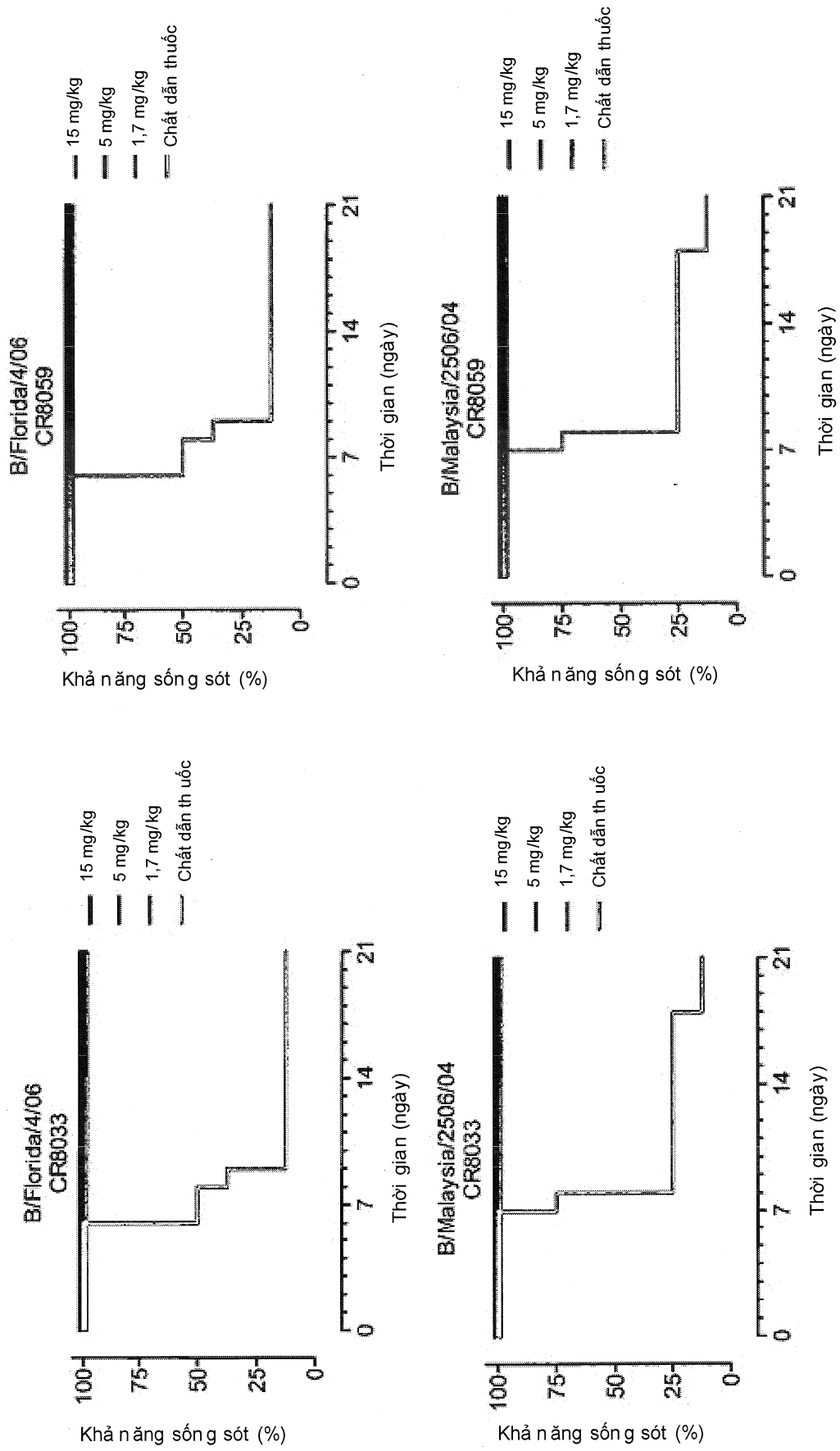


FIG. 4

Biểu diễn trên thước tỷ lệ 1μm

FIG. 5



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Crucell Holland B.V.

<120> Phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với ngưng kết tổ hồng cầu của các chủng virus cúm B và được phẩm chứa phân tử này

<130> 0194EP00P00PRI

<140> EP12158525.1

<141> 2012-03-08

<160> 133

<170> PatentIn phiên bản 3.3

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CR8033 HC CDR1

<400> 1

Gly Phe Ser Phe Asp Glu Tyr Thr
1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CR8033 HC CDR2

<400> 2

Ile Asn Trp Lys Gly Asn Phe Met
1 5

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CR8033 HC CDR3

<400> 3

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ser Ala Met Asp Ile Leu Glu Gly Gly
1 5 10 15

Thr Phe Asp Ile
20

<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> CR8033 LC CDR1

<400> 4

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 5
<211> 3
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> CR8033 LC CDR2

<400> 5

Gly Ala Ser
1

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> CR8033 LC CDR3

<400> 6

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR1

<400> 7

Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Ser Gly
 1 5

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR2

<400> 8

Ile Ser Gly Tyr Ser Gly Asp Thr
 1 5

<210> 9
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR3

<400> 9

Ala Arg Asp Val Gln Tyr Ser Gly Ser Tyr Leu Gly Ala Tyr Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 10

Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn Tyr
1 5

<210> 11

<211> 3

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 11

Arg Ser Tyr
1

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 12

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Trp Val
1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 13

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asp Gly Trp Val
1 5 10

<210> 14

<211> 8

<212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR1

<400> 14

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 15
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR2

<400> 15

Ile Asn Trp Val Ser Thr Thr Met
 1 5

<210> 16
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR3

<400> 16

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ala Ala Ile Asp Ile Leu Glu Gly Gly
 1 5 10 15

Thr Phe Asp Ile
 20

<210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR1

<400> 17

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 18

<211> 3

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 18

Asp Val Ser
1

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 19

Ser Ser Tyr Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Val
1 5 10

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR1

<400> 20

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Ser Pro Tyr Lys
1 5 10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR2

<400> 21

Phe Tyr Tyr Asp Gly Ser Thr
 1 5

<210> 22

<211> 18

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR3

<400> 22

Ala Ala Tyr Cys Ser Ser Ile Ser Cys His Ala Tyr Tyr Asp Tyr Met
 1 5 10 15

Asn Val

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 23

Gln Ser Leu Arg His Glu Asn Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10

<210> 24

<211> 3

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 24

Leu Gly Ser

1

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 25

Met Gln Ala Leu Thr Gln Thr Leu Thr

1

5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 26

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 27

Leu Ser Asp Glu Ser Thr Thr

1

5

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 28

Ala Glu Asp Leu Gly Thr Val Met Asp Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asn
1 5 10 15

Val

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 29

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Leu Asn Tyr
1 5 10

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 30

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR1

<400> 31

Gly Asp Thr Phe Thr Asn Tyr His
1 5

<210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR2

<400> 32

Ile Asn Pro Ser Gly Gly Asp Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR3

<400> 33

Ala Thr Asp Glu Ser Pro Gly Leu Leu Thr Gly Leu Arg Asp Tyr Trp
 1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR3

<400> 34

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Cys Ser
 1 5 10

<210> 35
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR1

<400> 35

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr
 1 5

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR2

<400> 36

Ile Asn Pro Ile Ser Gly Asp Thr
 1 5

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR3

<400> 37

Ala Arg Val Ala Gly Glu Asp Trp Phe Gly Asp Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 38

<211> 3

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 38

Gly Thr Ser
 1

<210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR3

<400> 39

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
 1 5

<210> 40
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR1

<400> 40

Gly Tyr Ala Phe Asn Gly Tyr Gly
 1 5

<210> 41
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR2

<400> 41

Ile Asn Thr Tyr Lys Val Asn Thr
 1 5

<210> 42
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR3

<400> 42

Ala Arg Asp Trp Gly Gly Pro Phe Gly Asn Ala Phe Asp Phe
 1 5 10

<210> 43
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR1

<400> 43

Gln Ser Val Gly Ser Tyr
 1 5

<210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR3

<400> 44

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
 1 5

<210> 45
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR1

<400> 45

Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr Tyr
 1 5

<210> 46
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR2

<400> 46

Met Asn Leu His Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 47

<211> 18

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR3

<400> 47

Ala Arg Glu Ser Pro Asp Ser Ser Gly Tyr Pro Gly Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Val

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 48

Gln Ser Val Ser Ser Asp Phe
1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 49

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Thr Trp Thr
1 5

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR2

<400> 50

Met Asn Pro His Gly Gly Ser Thr
 1 5

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR1

<400> 51

Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Pro
 1 5

<210> 52
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR2

<400> 52

Thr Asn Asp
 1

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR3

<400> 53

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Trp Val
1 5 10

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 54

Gly Tyr Ala Phe Thr Gly Tyr Gly
1 5

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR2

<400> 55

Ile Asn Thr Tyr Lys Phe Asn Thr
1 5

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR3

<400> 56

Ala Arg Asp Trp Ala Gly Pro Phe Gly Asn Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR1

<400> 57

Gln Asp Ile Ser Asp Tyr
1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 58

Gln Gln Tyr Gly Asn Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 59

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HC CDR1

<400> 59

Gly Phe Thr Phe Asp Glu Tyr Ile
1 5

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 60

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr His Val
1 5 10

<210> 61
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> HC CDR1

<400> 61

Gly Phe Ser Phe Asp Glu Tyr Ile
 1 5

<210> 62
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR1

<400> 62

Arg Arg Asp Val Gly Asp Tyr Lys Tyr
 1 5

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR3

<400> 63

Ser Ser Tyr Thr Thr Ser Asn Thr Arg Val
 1 5 10

<210> 64
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> LC CDR1

<400> 64

Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 65
<211> 3
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> LC CDR2

<400> 65

Ala Ala Ser
1

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> LC CDR3

<400> 66

Gln Gln Ala Asn Thr Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 67
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> LC CDR1

<400> 67

Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 68
<211> 3
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR2

<400> 68

Gly Lys Asn
1

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LC CDR3

<400> 69

Asp Ser Arg Asp Ser Ser Gly Thr His Tyr Val
1 5 10

<210> 70

<211> 372

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-033 VH ADN

<400> 70

gaggtgcagc tgggtggagac tggggggaggc ctggtacagc ctggcaggtc cctgagactg
60

tcctgtgcag cctctggatt cagctttgat gaggtaacca tgcattgggt ccggcaagct
120

ccagggaagg gcctggagtg ggtcgcaggc attaattgga aaggtaattt catgggttat
180

gcggactctg tccagggccg attcaccatc tccagagaca acggcaagaa ctccctctat
240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagaccgg
300

ctggagagtt cagctatgga cattctagaa ggggggtactt ttgatatctg gggccaaggg
360

acaatggtca cc
372

<210> 71
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-033 VH PROTEIN

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asp Glu Tyr
 20 25 30

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

Ala Gly Ile Asn Trp Lys Gly Asn Phe Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ser Ala Met Asp Ile Leu Glu Gly Gly
 100 105 110

Thr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 115 120

<210> 72
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-033 VL ADN

<400> 72

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca ccagggccac tggatatcca
180

gccaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatc ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctg gacgttcggc
300

caagggacca aggtggaaat caaac
325

<210> 73

<211> 108

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-033 VL PROTEIN

<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	Thr	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	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	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Gly	Ser	Ser	Pro
				85					90					95	

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

<210> 74
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-059 VH ADN

<400> 74
 gaggtccagc tggtagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgagggtc
 60
 tcctgcaggg cctctgggta catctttacc gaatctggta tcacctgggt gcgccaggcc
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgggt acagtgggtga cacaaaatat
 180
 gcacagaaac tccagggcag agtcaccatg accaaagaca catccacgac cacagcctac
 240
 atggaattga ggagcctgag atatgacgac acggccgtat attactgtgc gagagacgtc
 300
 cagtacagtg ggagttatct gggcgcctac tactttgact attggagccc gggaaccctg
 360
 gtcaccgtct cgagc
 375

<210> 75
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-059 VH PROTEIN

<400> 75

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

Ser Val Arg Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Gly Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Val Gln Tyr Ser Gly Ser Tyr Leu Gly Ala Tyr Tyr Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Ser Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 76
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-059 VL ADN

<400> 76
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc
 60

tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga actaattatg tatactggta ccagcagttc
 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat aggagttatc agcggccctc aggggtccct
 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggctcc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag
 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca acatgggatg acagcctgaa tggttgggtg
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g
 331

<210> 77
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-059 VL PROTEIN

<400> 77

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn
 20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 78
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CR08071 VH PROTEIN

<400> 78

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

Ser Val Arg Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Gly Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Val Gln Tyr Ser Gly Ser Tyr Leu Gly Ala Tyr Tyr Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Ser Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 79
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> CR08071 VL PROTEIN

<400> 79

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asp Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Lys
100 105 110

<210> 80
<211> 389
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> SC10-051 VH ADN

<400> 80
gaggtccagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtagaactt
60

tcctgcaagg catctggaga caccttcacc aactaccata tacactgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaatccta gtggtggtga cacagactac
180

tcacagaagt tccagggcag agtcaccctg accagggaca ggtccacaaa cacattctat
240

atgaagttgg ccagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gacagatgag
300

agtcccggac ttttgactgg ccttcgggat tactggtact actacggtat ggacgtctgg
360

ggccagggga ccacggtcac cgtctcgag
389

<210> 81
<211> 129
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-051 VH PROTEIN

<400> 81

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Arg Ser Thr Asn Thr Phe Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Thr Asp Glu Ser Pro Gly Leu Leu Thr Gly Leu Arg Asp Tyr Trp
 100 105 110

Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 115 120 125

Ser

<210> 82

<211> 328

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-051 VL ADN

<400> 82

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctct gtgcagtttt
300

ggccagggga ccaagctgga gatcaaac
328

<210> 83

<211> 109

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-051 VL PROTEIN

<400> 83

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 Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 84
 <211> 368
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-049 VH ADN

<400> 84
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct
 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcacgt cttagtgatg aaagtaccac atactatgca
 180
 gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagacaatt ccaagaacac actgtatctg
 240
 cagatgaaca gcctgaaagc cgacgacacg gccatatatt actgtgcgga ggatctgggg
 300
 acggtgatgg actcctacta ctacggtatg aacgtctggg gcccagggac cacggtcacc
 360
 gtctcgag
 368

<210> 85
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-049 VH PROTEIN

<400> 85

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

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

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

Ser Arg Leu Ser Asp Glu Ser Thr 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 Lys Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Glu Asp Leu Gly Thr Val Met Asp Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asn Val
 100 105 110

Trp Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 86

<211> 337

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-049 VL ADN

<400> 86

gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc
 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gactcaatta tttggattgg
 120

tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc
 180

tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc
 240

agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct
 300

ttcacttttcg gcggagggac caaggtggag atcaaac
 337

<210> 87
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-049 VH PROTEIN

<400> 87

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asn Gly Leu Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 88
 <211> 382
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-023 VH ADN

<400> 88
 gaggtgcagc tggtggagac tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggct cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcattgggt ccggcaagct
 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaattggg ttagtactac catgggctat
180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat
240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatagg
300

ctggagagtg cagctataga cattctagaa ggggggtactt ttgatatcag gggccaaggg
360

acaatgggtca ccgtctcgag cg
382

<210> 89

<211> 127

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-023 VH PROTEIN

<400> 89

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Thr	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	

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

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

Ser	Gly	Ile	Asn	Trp	Val	Ser	Thr	Thr	Met	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50						55				60				

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

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

Ala	Lys	Asp	Arg	Leu	Glu	Ser	Ala	Ala	Ile	Asp	Ile	Leu	Glu	Gly	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

100

105

110

Thr Phe Asp Ile Arg Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 90
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-023 VL ADN

<400> 90
 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgcg tccggctctc ctggacagtc agtcaccatc
 60

tcctgcactg gaaccagcag tgatgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccaacag
 120

caccaggca aagccccaa actcatgatt tatgatgtca gtaagcggcc ctcaggggtc
 180

cctgatcgct tctctgggtc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctggggtc
 240

caggctgagg acgaggctga atattactgc agctcatatg caagcggcag cacttatgtc
 300

ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta g
 331

<210> 91
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-023 VL PROTEIN

<400> 91

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ser Gly
 85 90 95

Ser Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 92
 <211> 378
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-032 VH ADN

<400> 92
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcgggcac cctgtccctc
 60

acctgcaatg tctctggtgg ctccatcaac agtagtccct ataagtgggc ctggatccgc
 120

cagtccccag ggaaggggct ggagtggatt gggactttct attatgatgg gagcaccgac
 180

tacaaccgt cctccagag tcgactcacc atttccggag acatgtccag taaccacttc
 240

tccttgaggc tgaggtctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcggcctat
 300

tgtagtagta taagctgcc tgcctattac gactacatga acgtctgggg caaagggacc
 360

acggtcaccg tctcgagc
 378

<210> 93
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-032 VH PROTEIN

<400> 93

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Asn Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Ser
 20 25 30

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

Trp Ile Gly Thr Phe Tyr Tyr Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Gln Ser Arg Leu Thr Ile Ser Gly Asp Met Ser Ser Asn His Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Arg Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Ala Tyr Cys Ser Ser Ile Ser Cys His Ala Tyr Tyr Asp Tyr
 100 105 110

Met Asn Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 94
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC10-032 VL ADN

<400> 94

gaaattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc
60

atctcctgca ggtctagtca gagcctccga catgagaatg gatacaacta tttggattgg
120

tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatgt atttgggttc tgttcggggc
180

tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc
240

agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaacgctc
300

actttcggcg gagggaccaa gctggagatc aaac
334

<210> 95

<211> 111

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC10-032 VL PROTEIN

<400> 95

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Arg	His	Glu
			20					25					30		

Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			

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

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

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

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 96
 <211> 364
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-024 VH ADN

<400> 96
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa attaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
 60

tcctgcaagg cttctggata cagcttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag gacctgagtg gatggggcgg atcaacccta tcagtgggtga cacaaactat
 180

gcacagaggt ttcagggcag ggtcaccttg accagggaca ggtccaccag cacagcctac
 240

atggagctga gcgggctgaa atctgacgac acggccgtat atttctgtgc gagagtcgcg
 300

ggtgaagatt gggtcgggga tcttgactat tggggccagg gaaccctggt caccgtctcg
 360

agcg
 364

<210> 97
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-24 VH PROTEIN

<400> 97

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

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

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

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

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

Met Glu Leu Ser Gly Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 98
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-024 VL ADN

<400> 98
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc
 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcttt ggaacatcca gcagggccac tggcatccca
 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctcg gacgttcggc
 300

caagggacca aggtggagat caaac
 325

<210> 99
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-024 VL PROTEIN

<400> 99

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

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

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

Ile Phe Gly Thr 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

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

<210> 100
 <211> 364
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-035 VH ADN

<400> 100
 caggtgcagc tggtagctgc tggagctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc
 60

tcctgcaaga cctctgggta cgcctttaac ggctacggta tcagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagtg ggtggcatgg atcaacactt acaaagttaa cacacattat
180

gcacagaatc tccggggcag ggtcaccgtg agcatagaca catccacgac cacagcctat
240

atggaactga ggagcctgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gagagactgg
300

ggtgggccgt ttgggaacgc ttttgatttc tggggccaag ggacaatggt caccgtctcg
360

agcg
364

<210> 101
<211> 121
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> SC11-035 VH PROTEIN

<400> 101

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 Thr Ser Gly Tyr Ala Phe Asn Gly Tyr
20 25 30

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

Ala Trp Ile Asn Thr Tyr Lys Val Asn Thr His Tyr Ala Gln Asn Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Trp Gly Gly Pro Phe Gly Asn Ala Phe Asp Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 102
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-035 VL ADN

<400> 102
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctggctgcat ctataggaga cagtgtcacc
 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcggtggc tcttacttaa attggtatca gcaaaaacca
 120

gggaaagccc ctaagttggt gatctatggt gcatccaatg tgcaaagtgg ggtcccatca
 180

aggtttagtg gcagtgagtc tgggacagag tccacactca ccatcaacaa tctgcagcct
 240

gaagattctg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctagaac gttcggccaa
 300

gggaccaagg tggaatcaa ac
 322

<210> 103
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-035 VL PROTEIN

<400> 103

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

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Tyr

20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Val Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Glu Ser Gly Thr Glu Ser Thr Leu Thr Ile Asn Asn Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 104
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> SC11-036 VH ADN
 <400> 104
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgacggtt
 60
 tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactatt tacactgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atgaatcttc atggtggttag cacaacctac
 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag gacagtttac
 240
 atggagctga gcggcctgag atctgaggac tcggccgtat attactgtgc ccgagagagt
 300
 cccgatagca gtggttatcc tggctactac ggtatggacg tctggggcca ggggaccacg
 360
 gtcaccgtct cgagc
 375

<210> 105
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-036 VH PROTEIN

<400> 105

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

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

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

Gly Ile Met Asn Leu His Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Ser Pro Asp Ser Ser Gly Tyr Pro Gly Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 106
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-036 VL ADN

<400> 106

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcgacttct tcgcctggta ccagcagaaa
120

cgtggccaga ctcccaccct cctcatctat ggtacatcca ccagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcacac tcagcgtcgc cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcgacgtg gacgttcggc
300

caagggacca aggtggaaat caaac
325

<210> 107

<211> 108

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC11-036 VL PROTEIN

<400> 107

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 Asp
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Thr 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 Ser Val Ala Arg Leu Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 108
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-038 VH ADN

<400> 108
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt
 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactatt tgcactgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atgaaccctc atggtggtag cacaacctac
 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac
 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc ccgagagagt
 300
 cccgatagta gtggttatcc tggctactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg
 360
 gtcaccgtct cgagc
 375

<210> 109
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-038 VH PROTEIN

<400> 109

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr

20

25

30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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 Glu Ser Pro Asp Ser Ser Gly Tyr Pro Gly Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 110

<211> 331

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC11-038 VL ADN

<400> 110

tcctatgagc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatg
 60

tcttggttctg gaagcagatc caacatcgga tctaatacctg taagctgggt ccagcaactc
 120

ccgggaatgg tccccaaact cctcatctat actaatgatc agcggccctc aggggtccct
 180

gaccgattct ctgggtccaa gtctggcccc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag
 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa aggttgggtg
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g
331

<210> 111
<211> 110
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> SC11-038 VL PROTEIN

<400> 111

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

Arg Val Thr Met Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Pro Val Ser Trp Phe Gln Gln Leu Pro Gly Met Val Pro Lys Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Pro Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Lys Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 112
<211> 364
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> SC11-039 VH ADN

<400> 112

gaggtccagc tggtagcgtc tggagcagag gtgaaaaagc ccgaggagtc tgtgaagatc
60

tcctgtaaga cttctgggta cgcctttacc ggctacggta tcagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag gccttgagtg gatgggatgg atcaacactt acaaatttaa cacaaattat
180

gcacagaacc tgcagggcag agtcaccatg accatagaca catccacgag cgcagcctac
240

atggagctga ggagcctgag atatgaggac acggccgtat atttctgtgc gagagactgg
300

gctgggccgt ttgggaatgc ttttgatgtc tggggccagg ggacaatggt caccgtctcg
360

agcg
364

<210> 113
<211> 121
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> SC11-039 VH PROTEIN

<400> 113

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 114
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-039 VL ADN

<400> 114
 acatccagat gacccagtct ccattcttccc tgtctgcatc tataggagac agagtcgcca
 60

tcacttgcca ggcgagtcag gacattagcg actattttaa ttggtatcag caacaaccag
 120

ggaaagcccc taagctcctg ctctacggtg catccaattt ggaaacaggg gtcccatcaa
 180

ggttcagtgg aagtggatct gggacagatt ttactttcac catcagcagc ctgcagcctg
 240

aagacattgc aacatattat tgtcaacagt atggtaatct ccctccgact ttcggcgggg
 300

ggaccaagct ggagatcaaa c
 321

<210> 115
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC11-039 VL PROTEIN

<400> 115

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

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

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

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 116

<211> 121

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC09-114 VH PROTEIN

<400> 116

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 Ser Ser Gly Gly Thr Ser Asn Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg His Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 117

<211> 110

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC09-114 VL PROTEIN

<400> 117

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

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

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser Val Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Lys Gly Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 118
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-031 VH ADN

<400> 118
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ctggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gagtatatca tgcattgggt ccggcaagct
 120
 cccgggaagg gcccggaatg ggtcgcaggt attaattgga aaggtaattt catgggttat
 180
 gcggactctg tccagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctctat
 240
 ctgcaaataga acagtctgag agctgacgac acggccttat attactgtgc aaaagaccgg
 300
 ctggagagtt cagctatgga cattctagaa ggggggtactt ttgatatctg gggccaaggg
 360
 acaatgggtca cc
 372

<210> 119
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-031 VH PROTEIN

<400> 119

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Glu	Tyr
			20					25					30		
Ile	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Pro	Glu	Trp	Val

35

40

45

Ala Gly Ile Asn Trp Lys Gly Asn Phe Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ser Ala Met Asp Ile Leu Glu Gly Gly
 100 105 110

Thr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 115 120

<210> 120

<211> 331

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-031 VL ADN

<400> 120

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc
 60

tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt gggtataact atgtctcctg gtaccaacag
 120

caccaggca aagccccaa actcatgatt tatgatgtca gtagtcggcc ctcaggggtt
 180

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc gacacggcct ccctgagcat ctctgggctc
 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcatata caagcagcag cactcatgtc
 300

ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta g
 331

<210> 121

<211> 110
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-031 VL PROTEIN

<400> 121

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Ser Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95

Ser Thr His Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 122
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-032 VH ADN

<400> 122
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ctggtacagc ctggcaggtc cctgagactg
 60

tcctgtgcag cctctggatt cagctttgat gagtacatca tgcattgggt ccggcaagct
 120

ccaggggaagg gcctggagtg ggtcgcaggt attaattgga aaggtaatTT catgggttat
180

gcggactctg tccagggccg attcaccatc tccagagaca acggcaagaa ctccctctat
240

ctgcaaata acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagaccgg
300

ctggagagtt cagctatgga cattctagaa ggggggtactt ttgatatctg gggccaaggg
360

acaatggtca cegtctcgag c
381

<210> 123

<211> 127

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-032 VH PROTEIN

<400> 123

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

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Asp	Glu	Tyr
			20					25					30		

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

Ala	Gly	Ile	Asn	Trp	Lys	Gly	Asn	Phe	Met	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

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

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

Ala	Lys	Asp	Arg	Leu	Glu	Ser	Ser	Ala	Met	Asp	Ile	Leu	Glu	Gly	Gly
			100					105					110		

Thr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 124
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-032 VL ADN

<400> 124
 cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc
 60

tcctgcactg gaacccgcag ggacgttggt gattataagt atgtctcctg gtaccaacaa
 120

caccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgatgtca gtaatcggcc ctcaggggtc
 180

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc accacggcct cctgaccat ctctgggtc
 240

caggctgagg acgaggctga ttattattgc agttcataca caaccagcaa cactcgggtg
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g
 331

<210> 125
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-032 VL PROTEIN

<400> 125

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Arg Asp Val Gly Asp Tyr
 20 25 30

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

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Ser
 85 90 95

Asn Thr Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 126
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-034 VH ADN

<400> 126
 gaggtgcagc tgggtggagac tgggggaggc ctggtacagc ctggcagggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gagtatatca tgcattgggt ccggcaagct
 120

cccgggaagg gcccggaatg ggctgcaggt attaattgga aaggtaattt catgggttat
 180

gcggactctg tccagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctctat
 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgacgac acggccttat attactgtgc aaaagaccgg
 300

ctggagagtt cagctatgga cattctagaa ggggggtactt ttgatatctg gggccaaggg
 360

acaatgggtca ccgtctcgag c
 381

<210> 127

<211> 127
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-034 VH PROTEIN

<400> 127

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

Ala Gly Ile Asn Trp Lys Gly Asn Phe Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ser Ala Met Asp Ile Leu Glu Gly Gly
 100 105 110

Thr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 128
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-034 VL ADN

<400> 128
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct
240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacactt atccactcac tttcggcgga
300

gggaccaagc tggagatcaa ac
322

<210> 129

<211> 107

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-034 VL PROTEIN

<400> 129

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	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	

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

Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

100

105

<210> 130
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-035 VH ADN

<400> 130
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ctggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gagtatatca tgcattgggt ccggcaagct
 120
 cccgggaagg gcccggaatg ggtcgcaggt attaattgga aaggtaattt catgggttat
 180
 gcggactctg tccagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctctat
 240
 ctgcaaatga acagtctgag agctgacgac acggccttat attactgtgc aaaagaccgg
 300
 ctggagagtt cagctatgga cattctagaa ggggggtactt ttgatatctg gggccaaggg
 360
 acaatggtca ccgtctcgag c
 381

<210> 131
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-035 VH PROTEIN

<400> 131

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Glu	Tyr
			20					25					30		

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

Ala Gly Ile Asn Trp Lys Gly Asn Phe Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Glu Ser Ser Ala Met Asp Ile Leu Glu Gly Gly
 100 105 110

Thr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 132

<211> 325

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-035 VL ADN

<400> 132

tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc
 60

acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga
 120

caggcccctg tacttgatcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat ccagaccga
 180

ttctctggct ccagctcaag aaacacagct tccttgacca tcttggggc tcaggcgga
 240

gatgaggctg actattattg tgactcccgg gagagcagtg gaaccatta tgtcttcgga
 300

ggtgggacca aggtcacctg cctag
 325

<210> 133
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> SC08-035 VL PROTEIN

<400> 133

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 Arg Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asp Ser Arg Asp Ser Ser Gly Thr His
 85 90 95

Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105