(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) **1-0040212**

(51)[7] **C07K 16/10**; A61P 31/14; A61K 39/00; A61K 39/42

(13) **B**

(21) 1-2017-01364 (22) 18/11/2015
(86) PCT/EP2015/002305 18/11/2015 (87) WO/2016/078761 26/05/2016
(30) PCT/EP2014/003076 18/11/2014 EP
(45) 25/06/2024 435 (43) 25/10/2017 355A
(73) 1. HUMABS BIOMED SA (CH)
Via dei Gaggini 3, Bellinzona, 6500, Switzerland
2. Institut Pasteur (FR)
25-28, rue du Dr. Roux, Paris Cedex 15, 75724, France
(72) Davide CORTI (CH); Hervé BOURHY (FR).
(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) KHÁNG THỂ ĐƯỢC PHÂN LẬP TRUNG HÒA VIRUT DẠI, DƯỢC PHẨM VÀ KIT CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề xuất các kháng thể, và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, có khả năng trung hòa hiệu quả lây nhiễm ở cả RABV và các lyssavirut không phải RABV. Sáng chế cũng đề xuất các vị trí kháng nguyên mà các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng gắn vào, cũng như đề xuất các axit nucleic mã hóa cho các tế bào B bất từ và các tế bào huyết tương được nuôi cấy sản xuất các kháng thể và các mảnh kháng thể đã nêu. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất việc sử dụng kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế trong sàng lọc cũng như chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị lây nhiễm RABV và các lyssavirut không phải RABV.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa hiệu quả lây nhiễm cả virut dại (rabies virus-RABV và các lyssavirut không phải virut dại. Sáng chế cũng đề cập đến các vị trí kháng nguyên mà các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên gắn vào, cũng như các axit nucleic mã hóa và các tế bào B bất tử và tế bào huyết tương được nuôi cấy để sản xuất chẳng hạn như các kháng thể và các mảnh kháng thể. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng kháng thể và các mảnh kháng thể trong sàng lọc cũng như chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị lây nhiễm virut dại và lây nhiễm lyssavirut không phải virut dại.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh dại là một bệnh truyền nhiễm do virut, gây ra viêm nhiễm cấp tính ở não bộ. Bệnh dại phân bố gần như trên toàn thế giới và gây bệnh chủ yếu trên động vật hoang dã và gia súc, tuy nhiên cũng có cả con người, gây ra một dịch bệnh tàn phá mà gần như 100% tử vong ở những người không được được nhận phòng ngừa sau phơi nhiễm (post-exposure prophylaxis-PEP). Các triệu chứng ban đầu của bệnh dại bao gồm sốt và ngứa tại vị trí phơi nhiễm. Sau các triệu chứng này là một hoặc nhiều triệu chứng sau đây: co thắt, phấn khích quá độ, sợ nước, không thể cử động các bộ phận trên cơ thể, hỗn loạn và mất ý thức. Sau khi xuất hiện các triệu chứng, hầu hết bệnh dại đều dẫn đến tử vong. Thời gian từ lúc mắc bệnh đến khi xuất hiện các triệu chứng là từ một đến ba tháng. Tuy nhiên, khoảng thời gian này có thể thay đổi từ dưới một tuần đến hơn một năm. Khoảng thời gian phụ thuộc vào khoảng cách mà virut phải di chuyển đến hệ thần kinh trung ương.

Bệnh dại là bệnh do một số lyssavirut gây ra bao gồm virut dại và các lyssavirut khác, ví dụ như lyssavirut dơi ở Châu Âu (European dơi lyssavirut).

Lyssavirut có cấu trúc dạng xoắn đối xứng, với chiều dài khoảng 180 nm và mặt cắt ngang khoảng 75nm. Những virut này được bao bọc bởi lớp vỏ và có bộ gen là ARN sợi đơn. Thông tin di truyền được đóng gói như một phức hợp ribonucleoprotein

trong đó ARN được gắn chặt bởi nucleoprotein virut. Bộ gen ARN của virut mã hóa cho 5 gen mà thứ tự của nó được bảo thủ cao: nucleoprotein (N), phosphoprotein (P), protein nền (M), glycoprotein (G), và enzym ARN polymeraza của virut (L).

Chi Lyssavirut được chia thành ba nhóm loài. Nhóm I bao gồm các loài virut dại (RABV), lyssavirut dơi châu Âu typ 1 (EBLV-1) và typ 2 (EBLV-2), virut Duvenhage (DUVV), Lyssavirut dơi Australia (ABLV), virut Aravan (ARAV), Virut Khujand (KHUV), Lyssavirut dơi Bokeloh (BBLV) và Virut Irkut (IRKV). Nhóm II bao gồm Virut dơi Lagos (LBV), Virut Mokola (MOKV), và Virut dơi Shimoni (SHIV hoặc SHIBV). Các virut còn lại, Virut dơi Cáp-ca phương Tây (WCBV) và Lyssavirut Ikoma (IKOV) không nằm trong hai nhóm nêu trên nhưng có mối liên hệ phát sinh loài với nhau, tuy nhiên, khoảng cách di truyền của chúng lớn hơn so với khoảng cách giữa nhóm I và II. (Bourhy, H., et al. JouARNl of Clinical Microbiology 30, 2419–2426,1992; Bourhy, H., et al. Virology 194, 70–81, 1993; Amengual, B., et al. J Gen. Virol 78, 2319–2328, 1997; Hooper, P. T. et al. Bulletin de l'Institut Pasteur 95, 209–218,1997; Kuzmin, I. V. et al. Virus Res 149, 197–210, 2010; Badrane, H., et al. J Virol 75, 3268–3276, 2001; Marston, D. A. et al. Emerg Infect Dis 18, 664–667, 2012). Điều quan trọng là, tất cả các kiểu gen của lyssavirut này đều gây tử vong cho người và/hoặc động vật trong tự nhiên (Badrane, H., et al. J Virol 75, 3268–3276, 2001).

Kiểu gen của virut dại (RABV) là kiểu gen đầu tiên trong số mười bốn kiểu gen lyssavirut được xác định. Virut dại có hình viên đạn lớn, có vỏ ngoài bao bọc, được phân loại vào nhóm ARN virut sợi đơn và hệ gen của virut dại mã cho năm loại protein virut: enzym ARN polymeraza phụ thuộc ARN (L); nucleoprotein (N); protein được photphoryl hóa (P); protein nền (M) nằm phía bên trong lớp vỏ ngoài của virut; và một glycoprotein (G) nằm ở bề mặt ngoài của virut. G protein (62-67 kDa) là glycoprotein typ-I gồm 505 axit amin có từ hai đến bốn vị trí N-glucosyl hóa tiềm năng. G protein bao phủ bề mặt ngoài của vỏ virut và là đích kháng nguyên duy nhất, có khả năng tạo ra phức hợp virut - kháng thể trung hòa.

Bệnh dại là bệnh lan rộng trên toàn thế giới và mỗi năm có gần 10 triệu người được điều trị sau khi phơi nhiễm với bệnh dại, thường là sau khi bị động vật nhiễm bệnh cắn (chó, dơi, cáo, mèo, khỉ raccoon, chồn hôi, gia súc, chó sói, chó sói đồng cỏ

và các loại gia súc và động vật hoang dã khác). Ước tính có khoảng 40.000 đến 70.000 người chết vì bệnh dại mỗi năm, chủ yếu là ở châu Phi, Trung Quốc và Ấn Độ, và 50% trường hợp bệnh dại trên thế giới xảy ra ở trẻ em. Những số liệu này nêu bật đáng kể nhu cầu y tế chưa được đáp ứng để điều trị bệnh dại một cách an toàn, hiệu quả và với chi phí phải chăng.

Phòng ngừa bệnh dại được thực hiện bằng cách tiêm vacxin trước hoặc sau phơi nhiễm, chủ yếu sử dụng vacxin dựa trên nuôi cấy mô, hiện đại. Chủng ngừa trước khi phơi nhiễm (phòng ngừa trước phơi nhiễm Pre-exposure prophylaxis - PrEP) được khuyến cáo dành cho những người có nguy cơ mắc bệnh cao và được thực hiện bằng cách tiêm vacxin bệnh dại (tạo miễn dịch chủ động). Nhóm nguy cơ cao bao gồm những người làm việc với dơi hoặc những người có thời gian dài ở những vùng trên thế giới có bệnh dại hoành hành. Hơn nữa, chủng vacxin ngừa bệnh dại được khuyến cáo sử dụng cho những người đi du lịch tới các quốc gia ở châu Phi và châu Á, nơi bệnh dại là một bệnh địa phương.

Các vacxin bệnh dại có sẵn hiện nay bao gồm vacxin sản xuất từ mô thần kinh được sử dụng rộng rãi nhất nhưng có nguy cơ rủi ro cao hoặc vacxin sản xuất từ nuôi cấy tế bào và trứng phôi (cell culture và embryonated egg vaccines - CCEEVs)) an toàn hơn nhưng đắt hơn. Ở Đức, ví dụ, chỉ hai loại vacxin ngừa bệnh dại được bán trên thị trường là Rabipur® và "Tollwut-Impfstoff (tế bào lưỡng cực người [HDC]) inaktiviert". Các vacxin này chứa virut dại đã bị bất hoạt. Cả hai loại vacxin đều được khuyên dùng cho cả trước và sau phơi nhiễm.

Sau khi phơi nhiễm với virut, việc phòng ngừa sau phơi nhiễm (PEP) với vacxin bệnh dại và globulin miễn dịch chống bệnh dại (rabies immunoglobulin - RIG) là những phương pháp điều trị tiêu chuẩn để ngăn ngừa bệnh, nếu một người nhận được điều trị sớm nhất có thể sau khi lây nhiễm, nghĩa là, trong ngày đầu tiên sau khi lây nhiễm. Nếu không được điều trị cho đến khi bắt đầu xuất hiện các triệu chứng, bệnh dại gây tử vong gần như 100%. Do đó, hiện nay, không có liệu pháp điều trị bệnh dại.

Liệu pháp "điều trị" hiện đang được sử dụng khi một người nào đó được giả định bị lây nhiễm bởi virut được gọi là phòng ngừa sau phơi nhiễm (PEP), liệu pháp này kết hợp globulin miễn dịch chống bệnh dại (RIG), cụ thể là globulin miễn dịch

chống bệnh dại ở người và ngựa (lần lượt là HRIG và ERIG), với vacxin bệnh dại. Cụ thể là, bệnh nhân được nhận một liều RIG (tạo miễn dịch thụ động) và một vài liều vacxin bệnh dại (tạo miễn dịch chủ động) theo như thông tin của nhà sản xuất vacxin bệnh dại. Theo liệu pháp chuẩn được sử dụng rộng rãi, ví dụ, cung cấp năm liều vacxin trong khoảng thời gian trên 28 ngày, nghĩa là, liều vacxin bệnh dại thứ nhất được tiêm sớm nhất có thể sau khi phơi nhiễm, tốt hơn nếu vào ngày 0, các liều tiếp theo được tiêm vào ngày 3, 7, 14, và 28 sau liều đầu tiên (tham khảo trên http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Tollwut.html, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Ngược lại, globulin miễn dịch chống bệnh dại (RIG) tạo miễn dịch thụ động chỉ được cung cấp một lần, tốt hơn nếu tại, hoặc càng sớm càng tốt sau bắt đầu tiêm vacxin sau phơi nhiễm. Liều lượng globulin miễn dịch chống bệnh dại ở người (HRIG) theo dự kiến của WHO là 20 IU/kg thể trọng; đối với globulin miễn dịch chống bệnh dại ở ngựa (ERIG) và các sản phẩm F(ab')2 là 40 IU/kg thể trọng (tham khảo trên http://www.who.int/rabies/con người/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Đặc biệt là, các liều cao hơn có thể làm giảm hiệu quả của vacxin. Tất cả các globulin miễn dịch chống bệnh dại, hoặc biện pháp giải phẫu nhiều nhất có thể để tránh xảy ra hội chứng chèn ép khoang, nên được cung cấp trực tiếp vào hoặc ở xung quanh vị trí hoặc các vị trí vết thương. Globulin miễn dịch còn lại, nếu có, nên được tiêm trong cơ tại vị trí cách xa vị trí tiêm vacxin. Globulin miễn dịch chống bệnh dại có thể được pha loãng đến một thể tích đủ cho tất cả các vết thương được thâm nhập một cách hiệu quả và an toàn. (tham khảo trên http://www.who.int/rabies/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Liệu pháp này thường có hiệu quả nếu nó được cung cấp từ 24-48 giờ sau khi phơi nhiễm. HRIG được sử dụng rộng rãi, đặc biệt là ở các nước phát triển, và được coi là an toàn hơn so với ERIG. Giá thành cao và số lượng ít của HRIG khiến HRIG không được sử dụng rộng rãi ở các nước đang phát triển. Hơn nữa, vacxin và HRIG hoặc ERIG không có hiệu quả bảo vệ chống lại lây nhiễm với các loài lyssavirut khác (mức độ bảo vệ tỷ lệ nghịch với khoảng cách di truyền với chủng vacxin). Do đó, cần phải thay thế HRIG bằng ít nhất sản phẩm trên cơ sở kháng thể bệnh dại an toàn hơn và có hiệu lực tương đương được xem là vô cùng quan trọng để cải thiện khả năng tiếp cận với sinh học bệnh dại, đặc biệt là ở những nước đang phát triển.

Vì vậy, các kháng thể đơn dòng chuột cũng như các kháng thể đơn dòng người đã được nghiên cứu trong hàng thập kỷ qua với hai sản phẩm trong các thử nghiệm lâm sàng tiên tiến. Cụ thể là CL184 (được sản xuất bởi Crucell), là một dung dịch hỗn hợp của hai kháng thể người có tên là CR57 và CR4098, đã được nghiên cứu phát triển để thay thế cho HRIG trong các thử nghiệm lâm sàng đến giai đoạn III (Bakker, A. B. H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005; Goudsmit J, Marissen WE, Weldon WC, Niezgoda M, Hanlon CA, Rice AB, Kruif J, Dietzschold B, Bakker AB, Rupprecht CE (2006). Comparison of an anti-rabies human monoclonal antibody combination with human polyclonal anti-rabies immune globulin. J Infect Dis 193: 796-801). Tuy nhiên, gần đây thử nghiệm lâm sàng đã phải tạm dừng do dung dịch hỗn hợp không đủ hoạt tính trung hòa, hoặc một trong số hai kháng thể trong dung dịch hỗn hợp không đủ hoạt tính trung hòa, trong việc kháng lại một số chủng RABV hiện có. Một kháng thể đơn dòng người khác, hiện đang được thử nghiệm đến giai đoạn lâm sàng III ở Ấn Độ là RAB1, được sản xuất bởi Mass Biologics and Serum Institute của Ấn Độ và được sản xuất trên cơ sở kháng thể đơn dòng đơn lẻ (Sloan SE, Hanlon C, Weldon W, Niezgoda M, Blanton J, Self J, Rowley KJ, Mvàell RB, Babcock GJ, Thomas WD, Jr, et al (2007). Identification và characterization of a human monoclonal antibody that potently neutralizes a broad panel of rabies virus isolates Vacxin25: 2800-2810; Nagarajan T, Marissen WE, Rupprecht CE (2014) Monoclonal antibodies fhoặc the prevention of rabies: thehoặcy và clinical practice.Antibody Technology Journal 4: 1-12). Tuy nhiên, các chủng RABV không chỉ bị trung hòa bởi một kháng thể trong số các kháng thể đơn dòng (CR57, CR4098 và RAB1) đã được xác định. (Kuzimina NA, Kuzmin IV, Ellison JA, Rupprecht CE (2013)Conservation of binding quyết định kháng nguyên (epitop)s fhoặc monoclonal antibodies on the rabies virus glycoprotein. Journal of Antiviral và Antiretrovirals 5: 37-43, Marissen WE, Kramer RA, Rice A, Weldon WC, Niezgoda M, Faber M, Slootstra JW, Meloen RH, Clijsters-van der Hhoặcst M, Visser TJ, et al (2005) Novel rabies virus-neutralizing quyết định kháng nguyên (epitop) recognized by human monoclonal antibody: fine mapping và escape mutant analysis. J Virol 79: 4672-4678). Trong trường hợp của kháng thể RAB1, có hai trong số 25 chủng được thử nghiệm không bị trung hòa và có ba chủng bị trung hòa yếu (Sloan SE, Hanlon C, Weldon W, Niezgoda M, Blanton J, Self J, Rowley KJ, Mandell RB, Babcock GJ, Thomas WD, Jr, et al (2007) Identification và

characterization of a human monoclonal antibody that potently neutralizes a broad panel of rabies virus isolates. Vaccine 25: 2800-2810). Trong trường hợp này nguy cơ PEP thất bại, ít nhất là về lý thuyết, cao hơn so với trường hợp của dung dịch hỗn hợp kháng thể CR57 và CR4098. Những nghiên cứu này chỉ ra rằng, các kháng thể CR4098 và RAB1 có độ rộng phản ứng rất hạn chế đối với chủng không phải RABV và phần lớn các chủng RABV được thử nghiệm không bị trung hòa hoặc bị trung hòa rất yếu bởi các kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên III này. Thật vậy, do thiếu lượng lớn RABV che phủ nên nghiên cứu CL184 gần đây bị dừng lại, trong khi RAB1 vẫn đang được nghiên cứu phát triển trong giai đoạn 2/3 ở Ấn Độ.

Theo đó, vẫn cần phải thay thế HRIG bằng ít nhất một sản phẩm trên cơ sở kháng thể an toàn hơn và có hiệu lực tương đương. Hơn nữa, cũng cần phải có một sản phẩm có khả năng ngăn ngừa cũng như điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm với các lyssavirut khác có hiệu lực và hiệu quả cao, nghĩa là, một sản phẩm không chỉ giới hạn ở việc chỉ trung hòa mỗi RABV, đặc biệt là, do ở một số quốc gia, ví dụ như ở châu Âu hoặc Úc, bệnh dại chủ yếu truyền nhiễm qua dơi. Ngoài ra, điều quan trọng là cần phải có kháng thể có các đích quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau và các vị trí kháng nguyên khác nhau trên các chủng khác nhau và để tránh xuất hiện các chủng virut kháng và để ngăn chặn sự giải phóng của các biến thể kháng của virut.

Hơn nữa, do hiện nay không có liệu pháp điều trị bệnh dại, vì vậy cần phải có một sản phẩm có hiệu quả trong việc điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm, thậm chí là khi đã phơi nhiễm với virut được hơn 24 đến 48 giờ trước khi có những trị liệu đầu tiên với sản phẩm. Việc nghiên cứu phát triển liệu pháp trị liệu nêu trên mang lại lợi ích cho ít nhất hai loại bệnh nhân: những người biết là đã bị phơi nhiễm với RABV nhưng người không nhận được điều trị phòng ngừa sau phơi nhiễm đúng lúc do hoàn cảnh và người có nguy cơ lây nghiễm RABV cao, và những người không biết là mình đã tiếp xúc với virut và các xuất hiện các triệu chứng (có mức độ nghiêm trọng khác nhau) của bệnh (ví dụ như những người bị nhiễm bệnh do không để ý tiếp xúc với dơi bị bệnh; RABV ở dơi xuất phát từ nơi chó dại bị kiểm soát trở thành nguyên nhân dẫn đến bệnh dại ở người). Do đó, việc nghiên cứu phát triển một sản phẩm kháng thể trung hòa phổ rộng và hiệu quả giúp kéo dài thời gian điều trị sau phơi nhiễm đối với lây nhiễm RABV ở người, cái mà hiện nay đang bị hạn chế ở ngày đầu tiên sau lây nhiễm. Ở những người này, RABV có thể đã xâm nhập tới các mô thần kinh trung

ương và cũng đã xuất hiện các triệu chứng sớm hoặc muộn của bệnh. Những bệnh nhân này có thể được hưởng lợi từ việc điều trị với các kháng thể có khả năng trung hòa hiệu quả, cái mà có thể đi qua hàng rào máu não (hoặc được cung cấp trực tiếp vào hệ thần kinh trung ương - CSN) mang lượng kháng thể đủ để trung hòa hiệu quả sự nhân lên của virut trong các mô thần kinh trung ương.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Từ những quan điểm nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất sản phẩm kháng thể ít nhất là có hiệu lực tương đương nhưng an toàn hơn và giá cả hợp lý hơn so với HRIG. Ngoài ra, mục đích của sáng chế là đề xuất một sản phẩm có khả năng ngăn ngừa cũng như điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm với các lyssavirut khác có hiệu lực và hiệu quả cao, nghĩa là, sản phẩm này không bị giới hạn ở việc chỉ trung hòa mỗi virut dại. Mục đích khác nữa của sáng chế là đề xuất một sản phẩm có hiệu quả trong việc điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm, thậm chí là khi đã phơi nhiễm với virut được hơn 24 đến 48 giờ trước khi có những trị liệu đầu tiên với sản phẩm. Tóm lại, mục đích của sáng chế là đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó đã được cải tiến, cũng như các phân tử axit nucleic, các vectơ và các tế bào và dược phẩm khắc phục được những thiếu sót đã nêu trong lĩnh vực kỹ thuật trước đây bằng cách giải quyết trực tiếp và có chi phí hợp lý hơn.

Mục đích bên dưới của sáng chế được giải quyết bằng đối tượng được bảo hộ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Là bảng trình bày vắn tắt các đặc tính của RABV và các chủng lyssavirut không phải RABV được đề cập đến trong sáng chế. Bảng này gồm có, tên chủng, các loài virut và nhóm (như đã trình bày trong bảng 1 về các chủng lyssavirut không phải RABV) cũng như vật chủ, quốc gia, năm phát hiện, giống và số đăng ký trong ngân hàng gen (genbank) của trình tự axit amin và/hoặc trình tự axit nucleic của glycoprotein G của chủng, nếu có.

Fig. 2: Trình bày các kết quả về khả năng gắn với G-protein của RABV (A) và phản ứng trung hòa (B) lần lượt của một tập hợp gồm 90 mẫu và 29 mẫu huyết tương từ vacxin RABV. Ký hiệu màu đen đại diện cho HRIG (Berirab®), kí hiệu màu xám đại diện cho 4 phần tử cho được chọn để hỏi tế bào B nhớ.

Fig. 3: Trình bày vắn tắt về tất cả các gen và đặc tính chức năng của một tập hợp gồm 21 kháng thể trung hòa RABV được phân lập. Được trình bày là chuỗi nặng VH, chuỗi nhẹ VL, VK sử dụng, phần trăm tương đồng nucleotit với gen dòng mầm tương ứng, khả năng trung hòa trên giả virut (pseudoviruses - pp) CVS-11 RABV được trình bày dưới dạng nồng độ của IgG ở dạng ng/ml có khả năng trung hòa 90% lây nhiễm virut (IC_{90}) và khả năng phản ứng của các kháng thể trong western blot (WB) dưới các điều kiện khử và không khử.

Fig. 4: Trình bày kết quả của ma trận cạnh tranh chéo kháng thể đơn dòng được thực hiện bằng ELISA trên 21 kháng thể được phân lập và hai kháng thể tham chiếu có tính đặc hiệu quyết định kháng nguyên (epitop) đã biết (CR57 và CR4098). Được trình bày là tỷ lệ ức chế liên kết của kháng thể được gắn nhãn biotin ở dòng bên trên bởi các kháng thể được liệt kê trong cột bên trái.

Fig.5: Trình bày là kết quả của phản ứng trung hòa 13 loài lyssavirut khác nhau (22 chủng virut) được thử nghiệm như các virut giả bằng cách chọn 12 kháng thể đơn dòng người từ tập hợp kháng thể được phân lập so sánh với ba kháng thể tham chiếu là RAB1, CR57 và CR4098 và các globulin miễn dịch người đa dòng (HRIG, Berirab®). Được trình bày các giá trị IC_{90} dưới dạng ng/ml, trong đó IC_{90} >10'000 ng/ml được ghi nhận là âm tính (các giá trị trung hòa Berirab® được ghi nhận là âm tính nếu giá trị IC_{90} >50'000 ng/ml).

Fig. 6: Trình bày các kết quả của thử nghiệm trung hòa 8 loài lyssavirut khác nhau (16 chủng virut) được thử nghiệm như các virut lây nhiễm bằng cách chọn 12 kháng thể đơn dòng người từ tập hợp kháng thể được phân lập so sánh với ba kháng thể tham chiếu là RAB1, CR57 và CR4098 và các globulin miễn dịch người đa dòng (HRIG, Berirab®). Được trình bày là các giá trị IC_{50} dưới dạng ng/ml, trong đó IC_{50} > 10'000 ng/ml được ghi nhận là âm tính (các giá trị trung hòa Berirab® được ghi nhận là âm tính nếu giá trị IC_{50}>50'000 ng/ml).

Fig. 7: Trình bày về các kết quả của thử nghiệm trung hòa 13 loài lyssavirut khác nhau được thử nghiệm như là các virut giả (A, 22 chủng virut) hoặc các virut lây nhiễm (B, 16 chủng virut) bằng cách chọn 12 kháng thể đơn dòng người từ tập hợp kháng thể được phân lập so sánh với hai kháng thể tham chiếu là CR57 và CR4098 và các globulin miễn dịch người đa dòng (HRIG, Berirab®).

Fig. 8: Trình bày vắn tắt tỷ lệ các chủng lyssavirut không phải RABV (n=32) (A) và các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I (n=22) (B) được trung hòa có giá trị IC_{50} (đối với virut) hoặc giá trị IC_{90} (đối với virut dạng giả) dưới 10000 ng/ml bởi kháng thể đơn dòng RVC20, RVC58, RAB1, CR57, CR4098 hoặc sự kết hợp của kháng thể RVC20 với RVC58 hoặc CR57 với CR4098. Danh sách các chủng (và nhóm của chúng) được sử dụng trong phân tích này được trình bày trong Fig. 5 và 6. N, số lượng các chủng được sử dụng để tính toán trong các chủng được trung hòa *, HRIG được ghi nhận là âm tính khi IC_{50} hoặc IC_{90} >50'000 ng/ml; **, kháng thể RAB1 được thử nghiệm kháng lại lần lượt 26 chủng không phải RABV và 16 chủng không phải RABV nhóm I .

Fig. 9: Trình bày các kết quả của phản ứng trung hòa các chủng RABV được thử nghiệm như giả virut (các chấm tròn đầy, n=2) hoặc các virut (các chấm tròn rỗng, n=24) bởi các kháng thể RVC20 và RVC58 được chọn từ tập hợp các kháng thể và hai kháng thể tham chiếu là CR57 và CR4098.

Fig. 10: Trình bày rằng các kháng thể RVC20 và RVC58 trung hòa hiệu quả các chủng RABV đa giống. (A) Phản ứng trung hòa các chủng RABV được thử nghiệm như các virut dạng giả (các chấm tròn đầy, n=8, thể hiện các giá trị IC_{90}) hoặc các virut sống (chấm tròn rỗng, n=27; thể hiện các giá trị IC_{50}) bởi các kháng thể RVC20 và RVC58 được chọn từ tập hợp các kháng thể, các kháng thể tham chiếu CR57, CR4098 và RAB1 và HRIG. Phản ứng trung hòa chủng CVS-11 sử dụng các virut sống (thử nghiệm RFFIT, xem Fig. 11). Các đường nét đứt chỉ ngưỡng trung hòa trên 1'000 ng/ml. Được trình bày là giá trị trung bình đối với mỗi cặp dữ liêu. Giá trị *P* của kiểm định ghép cặp Wilcoson (****P<0,0001; ***P<0,001) được trình bày. (B) Cây phát sinh loài của 2215 trình tự G protein lấy từ cơ sở dữ liệu công cộng. Các chấm in đậm là trình tự của các chủng RABV được thử nghiệm trong nghiên cứu này (hai trình tự G protein, tức là CV9.13 và Mauritania/dog/2019-2006/V6235-2007, không có mặt và do đó, chúng không nằm trong cây phát sinh loài) bao gồm các trình tự được thử nghiệm bằng FACS về khả năng liên kết (tham khảo Fig. 11).

Fig. 11: trình bày tổng số 43 chủng RABV thử nghiệm. Hoạt tính trung hòa (giá trị IC_{50} đối với virut và giá trị IC_{90} đối với virut giả ở dạng ng/ml) của các kháng thể đơn dòng RVC20, RVC58, CR57, CR4098 và RAB1 và HRIG như được minh họa

trong Fig. 10. RFFIT, thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh; FAVN, thử nghiệm trung hòa virut với kháng thể huỳnh quang; PV, thử nghiệm trung hòa virut giả. *, các virut được thử nghiệm bằng FACS về khả năng gắn với các thể biến nạp G protein.

Fig. 12: Trình bày đặc tính của 26 chủng RABV được thử nghiệm như các virut hoặc virut giả cũng như hoạt tính trung hòa dưới dạng ng/ml của các kháng thể đơn dòng RVC20, RVC58, CR57, CR4098 và HRIG như được minh họa trong Fig. 9 và 10. RFFIT, thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh; FAVN, thử nghiệm trung hòa virut bằng kháng thể huỳnh quang; PV, thử nghiệm trung hòa trên virut dạng giả. Được trình bày là các giá trị IC_{50} đối với các kết quả của thử nghiệm FAVN và RFFIT và các giá trị IC_{90} đối với các kết quả của thử nghiệm PV.

Fig. 13: Trình bày đặc tính của 28 chủng lyssavirut không phải RABV được thử nghiệm như các virut hoặc virut giả cũng như hoạt tính trung hòa dưới dạng ng/ml của các kháng thể đơn dòng RVC20, RVC58, CR57, CR4098 và HRIG như được minh họa trong Fig. 5, 6 và 7. RFFIT, thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh; FAVN, thử nghiệm trung hòa virut với kháng thể huỳnh quang; PV, thử nghiệm trung hòa virut dạng giả. Được trình bày là các giá trị IC_{50} đối với các kết quả của thử nghiệm FAVN và RFFIT và các giá trị IC_{90} đối với các kết quả của thử nghiệm PV.

Fig. 14: trình bày các kết quả của thư nghiệm trung hòa CVS-11 và các thể đột biến CVS-11 khác nhau bằng một tập hợp gồm 12 kháng thể đơn dòng được chọn theo sáng chế và các kháng thể tham chiếu RAB1, CR57 và CR4098. Các tế bào màu đen là trung hòa hoàn toàn, các tế bào màu xám là trung hòa một phần và các tế bào màu trắng là không trung hòa. Nd, không thử nghiệm.

Fig. 15: chỉ ra rằng các kháng thể RVC20 và RVC58 nhắm tới các quyết định kháng nguyên (epitop) bảo thủ cao trong các vị trí kháng nguyên I và III. Mức độ bảo thủ của gốc axit amin trong vị trí kháng nguyên I và III được tính toán bằng cách phân tích các trình tự G-protein từ 2566 RABV. Biểu đồ tròn trình bày sự phân bố chi tiết của các axit amin sử dụng tại mỗi vị trí. Các gốc được gạch chân chỉ ra rằng virut gắn với gốc tương ứng tại vị trí này được trung hòa bởi kháng thể RVC20 hoặc RVC58. (A) tần số xuất hiệ các gốc axit amin tại vị trí kháng nguyên I; (B) tần số xuất hiện các gốc axit amin tại vị trí kháng nguyên III.

Fig. 16: sự sắp thẳng hàng của các trình tự vị trí kháng nguyên của G protein từ tất cả các lyssavirut được giải trình tự và được thử nghiệm. Được trình bày lần lượt là các lyssavirut không phải RABV nhóm II-IV và lyssavirut không phải RABV nhóm I. Nd, không thử nghiệm. (A) vị trí kháng nguyên I với mũi tên chỉ hướng ở cột đầu tiên ám chỉ việc thiếu sự trung hòa bởi CR57 và các mũi tên ở cột thứ hai (cột ngoài cùng bên phải của bảng A) ám chỉ việc không được trung hòa bởi kháng thể RVC20. (B) vị trí kháng nguyên III với các mũi tên ở cột thứ nhất ám chỉ việc thiếu trung hòa bởi kháng thể CR4098, các mũi tên ở cột thứ hai ám chỉ việc không được trung hòa bởi kháng thể RAB1 và các mũi tên ở cột thứ ba (cột ngoài cùng bên phải của bảng B) ám chỉ việc không được trung hòa bởi kháng thể RVC58. Các mũi tên nét đứt ám chỉ trung hòa yếu hoặc chỉ trung hòa một phần.

Fig. 17: trình bày tỷ lệ sống sót của chuột đồng Xy-ri bị lây nhiễm với chủng RABV CVS-11 và sau đó không được điều trị hoặc được điều trị với phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP tiêu chuẩn (HRIG và tiêm vacxin) hoặc với hai liều lượng khác nhau của dung dịch hỗn hợp các kháng thể đơn dòng RVC20+RVC58 (và tiêm vacxin). Virut RABV được tiêm trong cơ (50 µl của 105.7 TCID50/ml) vào cơ bụng chân ở chân trái sau. Vacxin được sử dụng là vacxin tế bào lượng bội người bất hoạt có trên thị trường (Imovax; Sanofi-Pasteur) và được tiêm trong cơ vào cơ chân bụng ở chân phải sau.

Fig. 18: Trình bày nồng độ của kháng thể IgG chuột đồng gắn với G protein được đo bằng thử nghiệm ELISA (A), nồng độ của kháng thể trung hòa huyết thanh chuột đồng (B) và nồng độ các kháng thể kháng IgG người (C) đo được trên huyết thanh thu được vào ngày thứ 42 sau khi chủng ngừa với vacxin RABV ở chuột Xy-ri không thử thách.

Fig. 19: Trình bày tỷ lệ sống sót của chuột đồng Xy-ri bị lây nhiễm với trường RABV được phân lập từ tuyến nước bọt của cáo bị nhiễm bệnh (Italy/red fox/673/2011) và sau đó không được điều trị, được điều trị ở ngày thứ nhất với phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP tiêu chuẩn (nghĩa là, HRIG và tiêm vacxin) hoặc điều trị vào ngày 1, 5 hoặc 9 sau lây nhiễm với một liều đơn của RVC58+RVC20 tại nồng độ 40 mg/kg.

Fig. 20: Trình bày hàm lượng mARN RABV NP được đo bằng RT-PCR trên

mẫu thần kinh trung ương sau khi chết (A) và nồng độ kháng thể IgG chuột đồng gắn với G protein đo được bằng ELISA (B) từ thử nghiệm được trình bày trong Fig. 18. Các dấu dấu sao chỉ ra rằng các động vật bị chết do lây nhiễm, hình kim cương là các động vật bị liệt vĩnh viễn ở chân sau tại vị trí thử thách virut và hình tròn là các động vật không xuất hiện triệu chứng.

Fig. 21: trình bày phân tích mô học của các mô của não, hành não và tủy sống thu được từ hai động vật đại diện được điều trị với RVC58 và RVC20 vào ngày thứ 5 sau lây nhiễm (A) hoạc không được điều trị (B). Cụ thể là, phân tích hóa mô miễn dịch nhằm mục đích chỉ ra sự có mặt của kháng nguyên N RABV để nhận biết các thể vùi gây bệnh (thể Negri).

Fig. 22: Trình bày trình tự axit amin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVA122 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 23: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVA144 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 24: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVB185 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 25: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC3 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 26: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC3 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 27: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC20 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 28: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC21 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 29: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC38 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 30: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC44 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 31: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC58 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 32: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC68 cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Fig. 33: Trình bày trình tự axitmin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC111cũng như trình tự nucleotit mã hóa cho chúng. Các trình tự được in đậm là các vùng CDR (nucleotit hoặc axit amin) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự "dòng mầm".

Mô tả chi tiết sáng chế

Mặc dù sáng chế được mô tả chi tiết dưới đây, cũng cần phải hiểu rằng sáng chế

không bị giới hạn bởi các phương pháp, quy trình và các chất phản ứng cụ thể được mô tả dưới đây vì chúng có thể thay đổi. Cũng cần phải hiểu rằng, các thuật ngữ được sử dụng ở đây không được dự định để làm giới hạn phạm vi của sáng chế, phạm vi của sáng chế chỉ bị giới hạn bởi yêu cầu bảo hộ. Trừ khi được định nghĩa khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có nghĩa giống với nghĩa thông thường được hiểu bởi những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập.

Sau đây, các phần của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết. Các phần này được liệt kê cùng với các phương án cụ thể, tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, chúng có thể kết hợp theo phương pháp bất kỳ và với số lượng bất kỳ để tạo ra các phương án bổ sung. Các ví dụ và các phương án ưu tiên được mô tả khác nhau theo từng trường hợp không nên hiểu là làm giới hạn của sáng chế chỉ ở các phương án được mô tả trực tiếp. Những mô tả này nên được hiểu là để hỗ trợ và chứa các phương án kết hợp với các phương án đã được mô tả trực tiếp với số lượng bất kỳ các phần ưu tiên và/hoặc được đề cập. Ngoài ra, bất kỳ sự thay đổi hay kết hợp nào của tất cả các phần được mô tả trong sáng chế nên được xem xét đề cập bằng những mô tả trong sáng chế trừ những ngữ cảnh đòi hỏi khác.

Trong suốt toàn bộ bản mô tả và yêu cầu bảo hộ bên dưới, trừ những ngữ cảnh đòi hỏi phải giải thích khác, thuật ngữ "bao gồm" và các biến thể của nó như "gồm" và "chứa" sẽ được hiểu là bao gồm một thành phần đã nêu, một số nguyên hoặc một bước nhưng không bao gồm các thành phần đã nêu, số nguyên hoặc bước khác. Thuật ngữ "có chứa" là một phương án cụ thể của thuật ngữ "bao gồm", trong đó không bao gồm các thành phần, số nguyên hoặc bước bất kỳ khác. Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "bao gồm" bao hàm cả thuật ngữ "có chứa". Do đó, thuật ngữ "bao gồm" bao hàm thuật ngữ "gồm có" cũng như thuật ngữ "có chứa", ví dụ, một hợp chất "bao gồm" X có thể chỉ chứa riêng X hoặc cũng có thể chứa thêm một thành phần bổ sung nào đó ví dụ, X+Y.

Thuật ngữ "một" và "một" và "một (có xác định)" và các thuật ngữ tương tự được sử dụng trong mô tả sáng chế (đặc biệt là trong yêu cầu bảo hộ) được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều, trừ khi được chỉ ra khác ở đây hoặc khác với ngữ cảnh. Việc trích dẫn lại khoảng giá trị ở đây chỉ đơn thuần nhằm mục đích đảm nhiệm như một

phương pháp viết tắt để đề cập riêng tới mỗi giá trị riêng lẻ nằm trong tập hợp. Trừ khi được chỉ ra khác, mỗi giá trị đơn lẻ được kết hợp trong bản mô tả như thể nó đã được trích dẫn ở đây. Cách diễn đạt trong bản mô tả không nên được hiểu là chỉ ra đối tượng không được bảo hộ bất kỳ cần thiết cho việc thực hiện sáng chế

Từ "về cơ bản" được sử dụng ở đây có nghĩa là "hoàn toàn" ví dụ, một hợp chất "về cơ bản không chứa" Y có thể là hoàn toàn không chứa Y. Khi cần, từ "về cơ bản" có thể được bỏ qua trong định nghĩa của sáng chế.

Thuật ngữ "khoảng" có liên quan tới giá trị x dạng số có nghĩa là x ± 10%.

Thuật ngữ "bệnh" như được sử dụng ở đây thường có cùng nghĩa, và được sử dụng thay thế cho các thuật ngữ như "rối loạn" và "tình trạng" (nghĩa là tình trạng bệnh trong y tế), trong đó, tất cả đều phản ánh tình trạng bất thường của cơ thể người hoặc động vật hoặc một trong số bộ phận của cơ thể, làm suy giảm các hoạt động chức năng thông thường, thường được biểu hiện bằng các dấu hiệu và triệu chứng tiêu biểu, và làm giảm tuổi thọ hoặc chất lượng cuộc sống của con người hoặc động vật.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" cho một đối tượng hoặc bệnh nhân bao gồm ngăn chặn, phòng ngừa, làm thuyên giảm, cải thiện tình trạng bệnh và trị liệu. Các thuật ngữ "đối tượng" hoặc "bệnh nhân" có thể sử dụng hoán đổi cho nhau ở đây để đề cập đến tất cả các động vật có vú bao gồm cả con người. Ví dụ về đối tượng bao gồm con người, bò, chó, mèo, ngựa, dê, cừu, lợn và thỏ. Theo một phương án, bệnh nhân ở đây là con người.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "mảnh liên kết kháng nguyên ", "mảnh" và "mảnh kháng thể" có thể sử dụng thay thế cho nhau để đề cập đến một mảnh bất kỳ của kháng thể theo sáng chế, mà có hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể. Ví dụ về các mảnh kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể chuỗi đơn, Fab, Fab', F(ab')2, Fv hoặc scFv. Ngoài ra, thuật ngữ "kháng thể" như được sử dụng ở đây bao gồm cả kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể trung hòa" là một kháng thể có khả năng trung hòa, nghĩa là, cản trở, ức chế, làm giảm, ngăn chặn hoặc gây trở ngại cho tác nhân gây bệnh trong việc bắt đầu lây nhiễm và/hoặc duy trì lây nhiễm ở vật chủ. Thuật ngữ "kháng thể trung hòa" và "kháng thể có khả năng trung hòa" hoặc "các

kháng thể có khả năng trung hòa" ở đây có thể sử dụng thay thế cho nhau. Những kháng thể này có thể sử dụng một mình hoặc sử dụng kết hợp để làm tác nhân điều trị hoặc phòng ngừa bệnh theo các công thức thích hợp, kết hợp với việc tiêm vacxin hoạt hóa để làm công cụ chẩn đoán, hoặc làm công cụ sản xuất như được mô tả ở đây.

Liều lượng thường trình bày liên quan đến trọng lượng cơ thể. Do đó, một liều lượng được trình bày ở dạng [g, mg, hoặc đơn vị khác]/kg (hoặc g, mg, v.v.) thường đề cập đến [g, mg, hoặc đơn vị khác] "trên mỗi kg (hoặc g, mg, v.v.) trọng lượng cơ thể" ngay cả khi thuật ngữ "trọng lượng cơ thể" không được nhắc đến rõ ràng.

Thuật ngữ "gắn đặc hiệu" và các thuật ngữ tương tự không bao gồm gắn không đặc hiệu.

Thuật ngữ "vacxin" như được sử dụng ở đây thường được hiểu là một chất trong điều trị hoặc phòng ngừa bệnh cung cấp ít nhất một kháng nguyên, tốt hơn nếu là một chất sinh miễn dịch. Kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch có thể lấy từ nguồn vật liệu bất kỳ phù hợp với việc tiêm vacxin. Ví dụ, kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch có thể lấy từ tác nhân gây bệnh, chẳng hạn từ vi khuẩn hoặc các hạt virut, v.v. hoặc từ khối u hoặc mô ung thư. Kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch kích thích hệ miễn dịch đáp ứng của cơ thể để cung cấp một phản ứng miễn dịch đáp ứng. Cụ thể là, "kháng nguyên" hoặc "chất sinh miễn dịch" thường đề cập đến một cơ chất được nhận biết bởi hệ miễn dịch, tốt hơn nếu bởi hệ miễn dịch đáp ứng, và có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên, ví dụ, bằng cách tạo ra các kháng thể và/hoặc các tế bào T đặc hiệu kháng nguyên như một phần của phản ứng miễn dịch đáp ứng. Thông thường, một kháng nguyên có thể là hoặc có thể chứa một peptit hoặc protein được trình diện bởi MHC của tế bào T.

Như được sử dụng ở đây, "biến thể trình tự" đề cập đến mọi sự thay đổi trong trình tự tham chiếu, trong đó trình tự tham chiếu là trình tự bất kỳ được liệt kê trong "bảng các trình tự và các số SEQ ID" (danh sách trình tự), nghĩa là, các trình tự nêu trong SEQ ID NO:1 tới SEQ ID NO:218. Do đó, thuật ngữ "biến thể trình tự" bao gồm các biến thể trình tự nucleotit và các biến thể trình tự axit amin. Lưu ý rằng, các biến thể trình tự được đề cập đến ở đây là các biến thể trình tự có chức năng cụ thể, nghĩa là, biến thể trình tự mang chức năng sinh học của, ví dụ, kháng thể. Trong ngữ cảnh của sáng chế, tốt hơn nếu chức năng sinh học đã nêu là khả năng gắn của kháng thể

vào G protein của RABV (và virut không phải RABV).

Tương đồng trình tự thường được tính toán liên quan đến toàn bộ chiều dài của trình tự tham chiếu (nghĩa là, trình tự đã trích dẫn trong đơn sáng chế). Phần trăm tương đồng, như được đề cập đến ở đây, sẽ được xác định, ví dụ, bằng cách sử dụng chương trình BLAST sử dụng các tham số mặc định được chỉ định bởi NCBI (trung tâm tin sinh quốc gia). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) [Blosum 62 matrix; gap open penalty=11 và gap extension penalty=1].

Như được sử dụng ở đây, "biến thể trình tự nucleotit" chứa một trình tự bị biến đổi trong đó một hoặc nhiều nucleotit trong trình tự tham chiếu bị mất hoặc bị thay thế, hay một hoặc nhiều nucleotit được thêm vào trong trình tự của trình tự nucleotit tham chiếu. Các nucleotit được đề cập đến ở đây bằng ký hiệu một chữ cái tiêu chuẩn (A, C, G, hoặc T). Do sự thoái hóa của mã di truyền, "biến thể trình tự nucleotit" có thể dẫn đến sự thay đổi trong trình tự axit amin tham chiếu tương ứng, nghĩa là trong một "biến thể trình tự axit amin" hoặc không. Tốt hơn nếu biến thể trình tự nucleotit là các biến thể trình tự nucleotit không tạo ra các biến thể trình tự axit amin (đột biến câm) tuy nhiên, các đột biến không câm khác cũng nằm trong phạm vi của sáng chế, đặc biệt là các trình tự nucleotit đột biến, cái tạo ra một trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90%, tốt hơn nữa là tương đồng ít nhất 95% với trình tự tham chiếu.

"Biến thể trình tự axit amin" chứa một trình tự bị biến đổi trong đó một hoặc nhiều axit amin trong trình tự tham chiếu bị mất hoặc bị thay thế, hay một hoặc nhiều axit amin được thêm vào trong trình tự của trình tự axit amin tham chiếu. Do những đột biến này, biến thể trình tự axit amin có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự tham chiếu, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90%, tốt hơn nữa nếu tương đồng ít nhất 95%, tốt nhất là tương đồng ít nhất 99% với trình tự tham chiếu. Các trình tự biến đổi tương đồng ít nhất 90% chứa không quá 10 đột biến, nghĩa là, tổ hợp bất kỳ của đột biến mất, thêm hoặc thay thế, trên 100 axit amin của trình tự tham chiếu.

Mặc dù có thể có các đột biến thay thế axit amin không bảo thủ, tốt hơn nếu các đột biến là đột biến thay thế axit amin bảo thủ, trong đó axit amin được thế có đặc tính cấu trúc hoặc hóa học tương tự với axit amin tương ứng trong trình tự tham chiếu. Các ví dụ về đột biến thay thế axit amin bảo thủ bao gồm thay thế axit amin aliphatic hoặc

kị nước (hydrophobic), ví dụ alanin, valin, leuxin và isoleuxin bằng một axit amin khác; thay thế một axit amin chứa nhóm hydoxyl, ví dụ serin và threonin bằng một axit amin khác, thay thế gốc axit, ví dụ axit glutamic hoặc axit aspartic bằng một axit khác, thay thế một gốc chứa amit, ví dụ, asparagin và glutamin bằng một gốc khác; thay thế một gốc thơm, ví dụ, phenylalanin và tyrosin bằng một gốc khác; thay thế một gốc bazơ ví dụ, lysin, arginin và histidin bằng một gốc khác; và thay thế một axit amin nhỏ, ví dụ, alanin, serin, threonin, methionin, và glyxin bằng một axit amin khác.

Đột biến thêm trình tự axit amin bao gồm gắn đầu carboxyl và/hoặc đầu amino từ một gốc vào chuỗi polypeptit chứa một trăm hoặc nhiều hơn một trăm gốc, cũng như chèn thêm một hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về đột biến thêm axit amin vào một đầu bao gồm gắn vào đầu N hoặc đầu C của một trình tự axit amin để trở thành phân tử báo cáo hoặc một enzym.

Điều quan trọng là, những biến đổi trong biến thể trình tự không làm mất đi chức năng của các trình tự tham chiếu tương ứng, trong trường hợp của sáng chế, ví dụ, chức năng của trình tự trong kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để gắn vào cùng một quyết định kháng nguyên (epitop) và/hoặc đủ trung hòa lây nhiễm RABV và các lyssavirut không phải RABV. Hướng dẫn để nhận biết lần lượt các gốc nucleotit và axit amin, có thể thay thế, thêm hoặc mất mà không làm mất chức năng được phát hiện bằng cách sử dụng các chương trình máy tính đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập.

Một vài tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả sáng chế. Mỗi tài liệu được trích dẫn ở đây (bao gồm các bằng sáng chế, đơn sáng chế, ấn phẩm khoa học, thông số kỹ thuật của nhà sản xuất, hướng dẫn của nhà sản xuất, v.v.) dù là trên hay dưới, đều được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Không có nội dung nào ở đây được hiểu như một sự thừa nhận rằng sáng chế không được phép trình bày trước các công bố đã nêu theo ưu điểm của sáng chế trước.

Cần phải hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn bởi các phương pháp, quy trình và các chất phản ứng cụ thể được mô tả dưới đây vì chúng có thể thay đổi. Cũng cần phải hiểu rằng các thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích miêu tả các phương án cụ thể, và không dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế, phạm vi của sáng chế chỉ bị giới hạn bởi yêu cầu bảo bộ đính kèm. Trừ khi được định nghĩa khác,

tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có nghĩa giống với nghĩa thông thường được hiểu bởi những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập.

Sáng chế dựa trên các phát hiện khác, tìm ra và phân lập các kháng thể có khả năng trung hòa hiệu quả RABV và các lyssavirut không phải RABV, cũng như các quyết định kháng nguyên (epitop) và các vị trí kháng nguyên mà các kháng thể theo sáng chế gắn vào. Các kháng thể đã nêu là các kháng thể mong muốn thu được, vì chỉ cần một lượng nhỏ kháng thể để trung hòa lây nhiễm RABV và các lyssavirut không phải RABV bằng một kháng thể đơn. Mỗi kháng thể đơn theo sáng chế có khả năng ngăn ngừa cũng như điều trị hoặc làm thuyên giảm một cách hiệu quả lây nhiễm RABV hoặc các lyssavirut không phải RABV. Nhờ đó, chi phí sản xuất dược phẩm chứa kháng thể dùng để điều trị lây nhiễm RABV và các lyssavirut không phải RABV giảm xuống. Hơn nữa, các kháng thể theo sáng chế không chỉ trung hòa RABV mà còn trung hòa các lyssavirut không phải RABV, các chủng này cũng là nguyên nhân gây bệnh dại, một cách mạnh mẽ và hiệu quả. Đối với RABV, các kháng thể theo sáng chế nhận biết các mức độ đột biến rộng, xảy ra một cách tự nhiên trong các quyết định kháng nguyên (epitop), do đó tránh được các chủng RABV kháng. Ngoài ra, các vị trí kháng nguyên peptit hoặc polypeptit sinh miễn dịch có chứa các quyết định kháng nguyên (epitop) được nhận biết bởi các kháng thể theo sáng chế có thể là một thành phần của vacxin hoặc liệu pháp kết hợp có khả năng tạo ra sự bảo vệ kháng lại RABV và các lyssavirut không phải RABV (phản xạ tạo miễn dịch chủ động).

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất một kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Do đó, "có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml" có nghĩa là mỗi loài được trung hòa bởi kháng thể theo sáng chế bị giới hạn bởi giá trị IC_{50} ở trên.

"Ít nhất 50% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV" đề cập đến ít nhất 50% trong số các loài virut Duvenhage (DUVV),

Lyssavirut dơi châu Âu typ 1 (EBLV-1) và typ 2 (EBLV-2), Lyssavirut dơi Australia (ABLV), Virut Irkut (IRKV), Virut Khujand (KHUV), virut Aravan (ARAV), Virut dơi Lagos (LBV), Virut Mokola (MOKV), Virut dơi Shimoni (SHIV hoặc SHIBV), Lyssavirut dơi Bokeloh (BBLV), và Virut dơi Cáp-ca phương Tây (WCBV), nghĩa là ít nhất 6 loài trong số 12 loài đã nêu ở trên.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

"Ít nhất 50% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV" đề cập đến ít nhất 50% trong số các loài virut Duvenhage (DUVV), Lyssavirut dơi châu Âu typ 1 (EBLV-1) và typ 2 (EBLV-2), Lyssavirut dơi Australia (ABLV), Virut Irkut (IRKV), Virut Khujand (KHUV), virut Aravan (ARAV), Virut dơi Lagos (LBV), Virut Mokola (MOKV), Virut dơi Shimoni (SHIBV), Lyssavirut dơi Bokeloh (BBLV), Virut dơi Cáp-ca phương Tây (WCBV) và Lyssavirut Ikoma (IKOV), nghĩa là ít nhất 7 loài trong số 13 loài đã nêu ở trên.

Mỗi loài lyssavirut đơn lẻ được xem là đã trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, khi ít nhất một chủng trong số các loài lyssavirut đã nêu ở trên được trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nếu ít nhất hai chủng trong số các loài lyssavirut đã nêu được trung hòa với IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Tốt hơn nếu, đạt được giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml với các virut lây nhiễm, nghĩa là, không phải là virut dạng giả.

Do đó, các kháng thể, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, theo sáng chế có khả năng trung hòa phổ lyssavirut rộng.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut của ít nhất 55%, tốt hơn là ít nhất 60%, tốt hơn nữa nếu trung hòa ít nhất 65%, tốt nhất là ít nhất 68% và đặc biết tốt nếu trung hòa ít nhất 70% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao

gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Tốt hơn nữa nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, trung hòa lây nhiễm lyssavirut của ít nhất 55%, tốt hơn là ít nhất 60%, tốt hơn nữa nếu trung hòa ít nhất 65%, tốt nhất là ít nhất 68% và đặc biết tốt nếu trung hòa ít nhất 70% các lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Hơn nữa, sáng chế cũng đề xuất kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% trong số tất cả các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% trong số tất cả các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Do đó, "ít nhất 50% trong số các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV" đề cập đến tất cả các chủng trong số 12 loài được liệt kê ở trên và "ít nhất 50% trong số các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV" đề cập đến tất cả các chủng thuộc 13 loài được liệt kê ở trên (nghĩa là, tất cả các chủng được xem xét đại diện cho 100% và số lượng các chủng được trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đại diện cho số phần trăm tương ứng). Tốt hơn nếu, 31 chủng đầu tiên sau đây được xem là phản ảnh 100% các chủng (tham khảo bảng 1, tất cả các chủng ngoài trừ IKOV), tốt hơn nữa nếu toàn bộ 32 chủng được trình bày trong bảng 1 (gồm cả IKOV) được xem là phản ảnh 100% số chủng:

Bảng 1: Các chủng lyssavirut không phải RABV.

Tên chủng	Loài virut	Nhóm
ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011	ABLV	I
98010	ABLV	I
1301 Lyssavirut dơi Bokeloh	BBLV	I
86132SA	DUVV	I
DUW/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012	DUVV	I
EBLV1a/Pháp/ dơi/ 122938-2002/V3951 -2009	EBLV-1	I
EBLV1b/Pháp/ dơi/8918-1989	EBLV-1	I
EBLV2/Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009	EBLV-2	I
94112	EBLV-2	I
02053	EBLV-2	I
8619	LBV	II
MOK	MOK	II
Virut dơi Shimoni	SHIV	II
Virut dơi Cap-ca phương Tây	WCBV	III
Lyssavirut dơi Australia/RV634	ABLV	I
Virut Aravan	ARAV	I
Virut Duvenhage RSA2006	DUVV	I
Virut Duvenhage ZIM86-RV 131	DUVV	I
Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20	EBLV-1	I
Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9	EBLV-1	I
EBLV 1a/Pháp/dơi/ 122938-2002/V3951-2009*	EBLV-1	I
EBLV2/ Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009*	EBLV-2	I

Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787	EBLV-2	I
Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628	EBLV-2	I
Virut Irkut	IRKV	I
Virut Khujand	KHUV	I
8619*	LBV	II
Virut dơi Lagos NIG56-RV1	LBV	II
Virut dơi Lagos SA2004	LBV	II
Virut Mokola NIG68.RV4	MOK	II
Virut Mokola 98/071 RA36	MOK	II
Lyssavirut Ikoma	IKOV	IV

*chủng tương tự được thử nghiệm như virut dạng giả và virut lây nhiễm.

Mô tả chi tiết hơn về các chủng lyssavirut không phải RABV được trình bày trong bảng 1 (cũng như các chủng RABV khác) được trình bày trong Fig. 1. Fig.1 bao gồm - ngoài tên chủng, loài virut và nhóm (như được trình bày trong bảng 1) – vật chủ, quốc gia và năm phát hiện, giống và số đăng ký trên ngân hàng gen của trình tự axit amin hoặc nucleotit của glycoprotein G của chủng này, nếu có (tham khảo Fig.1).

Theo đó, có ít nhất 16 trong số 31 chủng đầu tiên được liệt kê trong bảng 1 (nghĩa là, tất cả các chủng ngoại trừ IKOV) được trung hòa bởi kháng thể, các biến thể kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, kháng thể, biến thể kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm của ít nhất 50% trong số tất cả các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Hơn nữa, nếu ít nhất 16 trong số 32chủng liệt kê trong bảng 1 được trung hòa bởi kháng thể, các biến thể kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, kháng thể, biến thể kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm của ít nhất 50% trong số các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV,

IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut của ít nhất 55%, tốt hơn là ít nhất 60%, tốt hơn nữa nếu trung hòa ít nhất 65%, tốt nhất là ít nhất 68% và đặc biết tốt nếu trung hòa ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut của ít nhất 55%, tốt hơn là ít nhất 60%, tốt hơn nữa nếu trung hòa ít nhất 65%, tốt nhất là ít nhất 68% và đặc biết tốt nếu trung hòa ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Tốt hơn nữa nếu, 12 chủng đầu tiên được trình bày trong bảng 1 (nghĩa là từ ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011 đến MOK/MOK) được thử nghiệm như là các virut lây nhiễm, trong đó, các chủng còn lại được trình bày trong bảng 1 (nghĩa là từ Virut dơi Shimoni/SHIV đến Lyssavirut Ikoma/IKOV) được thử nghiệm như là các virut dạng giả. Do đó, tốt hơn nếu một chủng được xem như là trung hòa một virut nào đó đối với virut lây nhiễm nếu có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml và đối với virut dạng giả nếu có giá trị IC_{90} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Do đó, theo một phương án ưu tiên, sáng chế đề xuất một kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% trong số tất cả chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/ dơi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/ dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK, Virut dơi Shimoni/SHIV, Virut dơi Cap-ca phương Tây/WCBV,

Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, virut Aravan/ARAV, virut Duvenhage RSA2006/DUVV, virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ ANH/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut dơi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut dơi Lagos SA2004/LBV, Virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và Lyssavirut Ikoma /IKOV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/ dơi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/ dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK được thử nghiệm như là virut lây nhiễm và có giá trị IC_{90} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với Virut dơi Shimoni/SHIV, Virut dơi Cap-ca phương Tây /WCBV, Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, virut Aravan/ARAV, virut Duvenhage RSA2006/DUVV, virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ ANH/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut dơi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut dơi Lagos SA2004/LBV, Virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và Lyssavirut Ikoma /IKOV được thử nghiệm như là virut dạng giả.

Các mô tả sau đây về sáng chế, đặc biệt là các phương án ưu tiên và các khía cạnh khác, đề cập đến cả kháng thể được phân lập, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml như được mô tả ở trên (bao gồm các phương án ưu tiên đã mô tả ở trên của nó) cũng như đề cập đến kháng thể được phân lập, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50%

trong số (tất cả) các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml như được mô tả ở trên (bao gồm các phương án ưu tiên đã mô tả ở trên của nó)

Tốt hơn nếu, kháng thể, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế gắn với G protein (glycoprotein G) của RABV. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế cũng gắn với G protein (glycoprotein G) của lyssavirut không phải RABV.

Kháng thể, biến thể kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có các giá trị IC_{50} rất thấp. Cụ thể là, các kháng thể có giá trị IC_{50} bằng 10000 ng/ml hoặc lớn hơn hầu như không có hiệu quả in vivo. Do đó, các kháng thể theo sáng chế có ái lực cao hoặc rất mạnh với RABV và các lyssavirut không phải RABV và nhờ đó chúng đặc biệt thích hợp với việc ngăn ngừa và/hoặc cản trở ít nhất một phần lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV và/hoặc các tác dụng phụ của lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Để xác định giá trị IC_{50} trong các thử nghiệm trung hòa, có thể sử dụng virut lây nhiễm hoặc các virut dạng giả. Các thử nghiệm trung hòa là những kiến thức đã biết đối với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Tuy nhiên, tốt hơn nếu sử dụng thử nghiệm trung hòa theo Wright, E. et al., Vaccine 27, 7178–7186, 2009, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn, được sử dụng để đánh giá virut giả (pseudoviruses-PV). Đối với virut lây nhiễm tốt hơn nếu sử dụng "thử nghiệm trung hòa virut với kháng thể huỳnh quang" (FAVN) theo như Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998., được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn, hoặc sử dụng "thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh" (RFFIT) theo Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Nhìn chung, thử nghiệm trung hòa thường đo khả năng lây nhiễm của virut bị mất đi qua phản ứng của virut với các kháng thể đặc hiệu. Thông thường, mất khả năng lây nhiễm có nguyên nhân là do sự can thiệp của các kháng thể vào các bước nhân lên của virut bao gồm gắn vào tế bào đích, xâm nhập, và/hoặc giải phóng virut. Các ví dụ không giới hạn về thử nghiệm trung hòa sau đây được đưa ra để minh họa nguyên lý: một nồng độ virut nhất định, ví dụ 50-100 TCDID50 (liều gây nhiễm 50%

nuôi cấy mô) và các nồng độ khác của kháng thể được trộn đều dưới các điều kiện thích hợp, ví dụ, trong 1 giờ, tại nhiệt độ phòng, và sau đó tiêm vào dịch nuôi cấy tế bào đích thích hợp, ví dụ các tế bào Hep-2 hoặc các tế bào BHK-21 (baby hamster kidney 21-thận chuột đồng sơ sinh 21). Các giá trị thường ở dạng trên mỗi ml dịch nuôi cấy tế bào. Sự có mặt của các virut không được trung hòa bị phát hiện ví dụ, sau một khoảng thời gian định trước, ví dụ 1, 2, 3, 4, 5, 6, hoặc 7 ngày, bằng cách đo hiệu quả gây độc tế bào của virut (không trung hòa) trên các tế bào đích, ví dụ, bằng cách sử dụng thử nghiệm phát quang để định lượng khả năng sống sót của tế bào, ví dụ như thuốc thử WST-1. Càng nhiều tế bào đích không bị chết hoặc được đo khả năng sống sót, càng nhiều virut bị trung hòa bởi kháng thể. Hiệu quả đo được thường phụ thuộc vào nồng độ: nồng độ kháng thể càng cao, càng nhiều tế bào được giải cứu. Phụ thuộc vào đặc tính trung hòa của kháng thể, các giá trị TCID50 cũng thay đổi, ví dụ, kháng thể có đặc tính trung hòa cao sẽ cần lượng (kháng thể) ít hơn (để, ví dụ, thu được cùng một lượng tế bào đích được "giải cứu" trong thử nghiệm, nghĩa là các tế bào đo được khả năng sống sót) so với các kháng thể có đặc tính trung hòa thấp hơn.

Tốt hơn nếu, kháng thể theo sáng chế có giá trị IC_{50} (nghĩa là nồng độ để trung hòa 50%) trong thử nghiệm trung hòa virut lây nhiễm như được mô tả ở trên nhỏ hơn 10000 ng/ml, tức là, đối với virut lây nhiễm, trong khi đó, trên cùng kháng thể, giá trị IC_{90} (nghĩa là nồng độ để trung hòa 90%) trong thử nghiệm trung hòa virut giả như được mô tả ở trên nhỏ hơn 10000 ng/ml, tức là liên quan đến virut giả.

Hơn nữa, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% lyssavirut không nhóm I phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, "ít nhất 70%" của các loài đã nêu ở trên có nghĩa là ít nhất 5 trên 7 loài. Sự lây nhiễm một loài lyssavirut được xem là trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, nếu ít nhất một loài trong số các loài lyssavirut này được trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, "ít nhất 70%" của các loài đã nêu ở trên có nghĩa là ít nhất 6 trên 8 loài.

Sự lây nhiễm một loài lyssavirut được xem là trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, nếu ít nhất một loài trong số các chủng lyssavirut này được trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Tốt hơn nếu, các kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 75%, tốt hơn nếu ít nhất 80%, tốt hơn nữa là ít nhất 82% lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nữa nếu, các kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 75%, tốt hơn nếu ít nhất 80%, tốt hơn nữa nếu ít nhất 82% lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Theo một phương án khác được ưu tiên, kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, "ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV" đề cập đến tất cả các chủng trong 7 loài được đề cập (nghĩa là, tất cả các chủng đại diện cho 100% và số chủng được trung hòa có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đại diện cho số phần trăm tương ứng). Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, "ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV" đề cập đến tất cả các chủng trong số 8 loài được đề cập (nghĩa là, tất cả các chủng đại diện cho 100% và số chủng được trung hòa có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đại diện cho số phần trăm tương ứng). Tốt hơn nữa nếu, 22 chủng được đề cập trong bảng 1 liên quan đến các loài thuộc nhóm I được sử dụng để tính tỷ lệ phần trăm. Theo đó, nêu ít nhất 16 trên 22 chủng được trình bày

trong bảng 1 liên quan đến loài thuộc nhóm I được trung hòa bởi kháng thể, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, kháng thể, biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nếu, các kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 75%, tốt hơn nếu ít nhất 80%, tốt hơn nữa là ít nhất 82% chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, và BBLV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Theo phương án ưu tiên khác, các kháng thể được phân lập, các biến thể kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/ dơi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/ dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ ANH/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2 và Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/ dơi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/ dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2 và 02053/EBLV-2, được thử nghiệm như virut lây nhiễm và có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut

Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ ANH/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV và Virut Khujand/KHUV được thử nghiệm như với virut dạng giả.

Trong số các lyssavirut, cụ thể là các lyssavirut nhóm I, đặc biệt ưu tiên các kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm EBLV-1. Cụ thể là, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm gây ra bởi ít nhất một chủng EBLV-1, tốt hơn nếu trung hòa ít nhất hai, tốt hơn nữa nếu, trung hòa ít nhất ba chủng EBLV-1, ví dụ các chủng EBLV-1 được trình bày trong bảng 1, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml. Do đó, đặc biệt ưu tiên nếu một hoặc nhiều chủng EBLV-1 được trung hòa ở cả thử nghiệm trung hòa virut dạng giả đã mô tả ở trên và thử nghiệm trung hòa virut lây nhiễm đã mô tả ở trên. Tốt hơn nữa nếu, giá trị IC_{50} trong thử nghiệm trung hòa virut lây nhiễm nhỏ hơn 10000 ng/ml và giá trị IC_{90} trong thử nghiệm trung hòa virut dạng giả nhỏ hơn 10000 ng/ml.

Lưu ý, không kháng thể nào trong số các kháng thể đơn dòng người CR57, CR4098 và RAB1 trong lĩnh vực kỹ thuật trước đó có thể trung hòa EBLV-1 (tham khảo Fig. 5 và 6). Tuy nhiên, bệnh dại do Lyssavirut dơi châu Âu typ 1 xuất hiện ở nhiều nước châu Âu và dơi được liệt kê là các loài được bảo vệ ở châu Âu. Bệnh gây tử vong ở người và được mô tả ở châu Âu sau một vết dơi cắn. Tiêm vacxin trước phơi nhiễm bệnh dại và điều trị sau phơi nhiễm được khuyên dùng cho những người có công việc phải tiếp xúc với dơi và việc điều trị cho những du khách quốc tế sau khi bị dơi cắn cũng được khuyến cáo sử dụng (Stantic-Pavlinic M. (2005) Eurosurveillance, Volume 10, Issue 11), tuy nhiên, như được thể hiện trong các Fig. 5 và 6, HRIG hầu như không trung hòa EBLV-1. Do đó, cần phải có kháng thể (người) trung hòa EBLV-1.

Cũng được ưu tiên là các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV CVS-11 có giá trị IC_{90} bằng 400 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nếu giá trị IC_{90} là 100 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn

nếu giá trị IC_{90} là 50 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa nếu giá trị IC_{90} là 1 ng/ml hoặc thấp hơn. Nói cách khác, nồng độ kháng thể, các mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế cần để trung hòa 90% (IC_{90}) chủng RABV CVS-11 (chủng virut thử thách 11-challenge virus strain 11) là 400 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nếu giá trị IC_{90} là 100 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa nếu giá trị IC_{90} là 50 ng/ml hoặc thấp hơn tốt nhất là 1 ng/ml hoặc thấp hơn, đặc biệt là trong thử nghiệm trung hòa virut dạng giả đã mô tả ở trên, và cũng được ưu tiên là trong thử nghiệm trung hòa virut lây nhiễm RFFIT đã mô tả ở trên.

Nhìn chung, tốt hơn nếu kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Trái với kháng thể đa dòng, kháng thể đơn dòng là các kháng thể đơn đặc hiệu, nghĩa là chúng gắn với một quyết định kháng nguyên (epitop) cụ thể. Do đó, tránh được lượng lớn liên kết không mong muốn và các kháng thể đơn dòng được xem là an toàn hơn so với các kháng thể đa dòng.

Tốt hơn nếu, kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể người, kháng thể đơng dòng, kháng thể đơn dòng người, kháng thể được tinh sạch, kháng thể chuỗi đơn, Fab, Fab', F(ab')2, Fv hoặc scFv.

Do đó, kháng thể theo sáng chế có thể là các kháng thể người, kháng thể đơn dòng, kháng thể đơn dòng người, kháng thể tinh sạch hoặc kháng thể tái tổ hợp. Sáng chế cũng đề xuất các mảnh kháng thể theo sáng chế, đặc biệt là các mảnh mang hoạt tính gắn kết kháng nguyên của kháng thể. Các mảnh đã nêu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể chuỗi đơn, Fab, Fab', F(ab')2, Fv hoặc scFv. Mặc dù trong bản mô tả, bao gồm cả yêu cầu bảo hộ, có thể, ở một vài chỗ, đề cập rõ ràng đến (các) mảnh liên kết kháng nguyên, (các) mảnh kháng thể, (các) biến thể và/hoặc (các) dẫn xuất của kháng thể, cũng cần phải hiểu rằng thuật ngữ "kháng thể" hoặc "kháng thể theo sáng chế" bao gồm tất cả các loại kháng thể, cụ thể là các mảnh liên kết kháng nguyên, (các) mảnh kháng thể, (các) biến thể và (các) dẫn xuất của kháng thể.

Có thể thu được các mảnh của kháng thể theo sáng chế từ các kháng thể bằng phương pháp bao gồm thủy phân với enzym, chẳng hạn như enzym pepsin hoặc papain, và/hoặc cắt đứt liên kết disulfit bằng phản ứng khử hóa học. Ngoài ra, có thể thu được các mảnh kháng thể bằng tách nhân dòng và biểu hiện một phần trình tự của

chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ. "Các mảnh" kháng thể bao gồm các mảnh Fab, Fab', F(ab')2 và Fv. Sáng chế cũng bao gồm các mảnh Fv chuỗi đơn (scFv) có nguồn gốc từ chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, sáng chế bao gồm một mảnh scFv có chứa các vùng CDR từ kháng thể theo sáng chế. Sáng chế cũng bao gồm các momome và dime chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, các kháng thể có một vùng chuỗi nặng, kháng thể có một vùng chuỗi nhẹ, cũng như các kháng thể chuỗi đơn, ví dụ, Fv chuỗi đơn trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được liên kết bằng liên kết peptit.

Các mảnh kháng thể theo sáng chế có thể truyền mối tương tác đơn trị và đa trị và có nhiều cấu trúc khác nhau như đã mô tả ở trên. Ví dụ, các phân tử scFv có thể được tổng hợp để tạo ra một "triabody" hóa trị ba hoặc một "tetrabody" hóa trị bốn. Các phân tử scFv có thể bao gồm một đoạn thuộc vùng Fc thu được từ các minibody lưỡng trị. Ngoài ra, các trình tự theo sáng chế có thể là thành phần của các phân tử đa đặc hiệu trong đó các trình tự theo sáng chế nhắm tới các quyết định kháng nguyên (epitop) theo sáng chế và các vùng khác của phân tử gắn với các đích khác. Các phân tử được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở Fab2 đặc hiệu kép, Fab3 đặc hiệu ba, scFv đặc hiệu kép, và các diabody (Holliger và Hudson, 2005, *Nature Biotechnology* 9: 1126-1136).

Nhìn chung, kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tốt hơn nếu có chứa (ít nhất) ba vùng CDR trên chuỗi nặng và (ít nhất) ba vùng CDR trên chuỗi nhẹ. Nhìn chung, vùng xác định bổ trợ (CDR) là vùng siêu biến có mặt trên các vùng biến đổi chuỗi nặng và các vùng biến đổi chuỗi nhẹ. Thông thường, các vùng CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đã liên kết của kháng thể cùng nhau tạo thành thụ thể kháng nguyên. Thông thường, ba vùng CDR (CDR1, CDR2, và CDR3) được sắp xếp không liên tiếp nhau trong vùng biến đổi. Do các thụ thể kháng nguyên thường chứa hai vùng biến đổi (trên hai chuỗi polypeptit khác nhau, tức là chuỗi nặng và chuỗi nhẹ), nên có sáu vùng CDR cho mỗi thụ thể kháng nguyên (chuỗi nặng: CDRH1, CDRH2, và CDRH3; chuỗi nhẹ: CDRL1, CDRL2, và CDRL3). Một phân tử kháng thể đơn thường có hai thụ thể kháng nguyên và do đó có chứa 12 vùng CDR. Các vùng CDR trên chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ có thể bị phân tách bởi các vùng sườn, trong đó vùng sườn (framework region -FR) là vùng nằm trên vùng biến đổi ít "biến đổi" hơn so với vùng CDR. Ví dụ, một chuỗi (hoặc lần lượt mỗi chuỗi) có thể

chứa bốn vùng sườn, ngăn cách bởi ba vùng CDR.

Tốt hơn nếu, các vùng CDR, đặc biệt là CDRH3, của kháng thể theo sáng chế có nguồn gốc từ một kháng thể được nghiên cứu phát triển trên người. Cụ thể là, các vùng CDR, đặc biệt là CDRH3, của kháng thể theo sáng chế là các kháng thể người hoặc các biến thể trình tự chức năng của nó.

Trình tự chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của một vài kháng thể theo sáng chế, mỗi trình tự chứa ba vùng CDR trên chuỗi nặng và ba vùng CDR trên chuỗi nhẹ đã được xác định. Vị trí của các axit amin CDR đã được xác định theo như thệ thống đánh số IMGT. (IMGT: http://www.imgt.hoặcg/; cf. Lefranc, M.-P. et al. (2009) Nucleic Acids Res. 37, D1006-D1012). Các trình tự của các vùng CDR, các chuỗi nặng, các chuỗi nhẹ cũng như các trình tự của phân tử axit nucleic mã hóa cho vùng CDR, chuỗi nặng, chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế, tức là, một vài kháng thể theo sáng chế, được trình bày trong phần danh sách trình tự. Các vùng CDR trên chuỗi nặng của kháng thể cũng lần lượt được đề cập đến như là CDRH1, CDRH2 và CDRH3. Tương tự, các vùng CDR trên chuỗi nhẹ của kháng thể cũng lần lượt được đề cập đến như là CDRL1, CDRL2 và CDRL3.

Tốt hơn nếu, kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng có chứa CDRH1, CDRH2 và CDRH3 và chuỗi nhẹ có chứa CDRL1, CDRL2 và CDRL3, trong đó CDRH3 chuỗi nặng chứa một trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, theo đó, được ưu tiên hơn nếu các trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% với trình tự nếu trong SEQ ID NO: 95 hoặc 167. Tốt hơn nếu, CDRH3 chuỗi nặng của kháng thể hoặc của mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có chứa trình tự axit amin của trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, tốt hơn nếu chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc 167. Nhìn chung, sáng chế cũng bao gồm kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có chuỗi nặng chứa CDRH1, CDRH2 và CDRH3 và chuỗi nhẹ chứa CDRL1, CDRL2 và CDRL3, trong đó chuỗi nặng CDRH3 chứa biến thể trình tự axit amin so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, theo đó các biến thể trình tự axit amin so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc 167

được ưu tiên hơn. Tốt hơn nếu, chuỗi nặng chứa ít nhất hai CDRH3 với một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 và một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO:167. Các biến thể trình tự được đề cập ở trên là các biến thể trình tự chức năng cụ thể, ví dụ, trong đó chức năng gắn kết kháng thể với G protein (glycoprotein G) của RABV (và virut không phải RABV) được giữ nguyên.

Được ưu tiên hơn rằng, kháng thể được phân lập theo sáng chế, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 và chuỗi nhẹ chứa CDR1, CDR2 và CDR3, trong đó CDR3 chuỗi nặng chứa một trình tự axit amin tương đồng ít nhất 90%, ví dụ 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, tốt hơn nếu tương đồng với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc 167. Tốt hơn nữa nếu chuỗi nặng có ít nhất hai CDRH3 với một CDRH3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 và một CDRH3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167. Các biến thể trình tự được đề cập ở trên là các biến thể trình tự chức năng cụ thể, ví dụ, trong đó chức năng gắn kết kháng thể với G protein (glycoprotein G) RABV (và virut không phải RABV) được giữ nguyên.

Bảng 2 đề cập đến các số SEQ ID của lần lượt sáu trình tự axit amin của vùng CDR trên chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, của các kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế.

Bảng 2. Các số SEQ ID của chuỗi polypeptit CDR của kháng thể được lấy làm ví dụ theo sáng chế.

	Số SEQ ID của chuỗi polypeptit CDR					
	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
RVA122	1	2	3	4	5/6	7
RVA144	19	20	21	22	23/24	25
RVB185	37	38	39	40	41/42	43

RVB492	55	56	57	58	59/60	61
RVC3	75	76	77	78	79/80	81
RVC20	93	94	95	96	97/98	99
RVC21	111	112	113	114	115/116	117
RVC38	129	130	131	132	133/134	135
RVC44	147	148	149	150	151/152	153
RVC58	165	166	167	168	169/170	171
RVC68	183	184	185	186	187/188	189
RVC111	201	202	203	204	205/206	207

Các biến thể kháng thể cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Do đó, các biến thể của các trình tự trích dẫn trong sáng chế cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Các biến thể được đề cập ở đây là các biến thể có chức năng cụ thể, ví dụ, trong đó chức năng gắn kết của kháng thể với G protein (glycoprotein G) RABV (và virut không phải RABV) được giữ nguyên. Các biến thể như vậy bao gồm các biến thể tự nhiên được tạo ra bởi bột biến tế bào sinh dưỡng *in vivo* trong quá trình đáp ứng miễn dịch hoặc nuôi cấy *in vitro* các dòng tế bào B bất tử. Ngoài ra, các biến thể có thể phát sinh do sự thoái hóa của mã di truyền hoặc có thể được tạo ra do các sai sót trong quá trình phiên mã hoặc dịch mã.

Có thể thu được các biến thể của trình tự kháng thể có ái lực và/hoặc hiệu lực được cải thiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập và cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Ví dụ, có thể sử dụng các đột biến thay thế axit amin để thu được các kháng thể có ái lực được cải thiện hơn nữa. Ngoài ra, có thể tối ưu hóa codon trong trình tự nucleotit để nâng cao hiệu quả dịch mã trong hệ thống biểu hiện để sản xuất kháng thể. Ngoài ra, chuỗi polynucleotit gồm một trình tự được tối ưu hóa về độ đặc hiệu kháng thể hoặc hoạt tính trung hòa bằng cách áp dụng phương pháp tiến hóa trực tiếp cho trình tự axit nucleic bất kỳ cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Tốt hơn nếu, trình tự kháng thể khác nhau có thể góp 70% hoặc nhiều hơn

(nghĩa là, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn) trình tự axit amin tương đồng với các trình tự trích dẫn trong sáng chế. Các biến thể như vậy thường có độ tương đồng với các trình tự được liệt kê dưới đây trong các vùng CDR thuộc vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) lớn hơn so với vùng sườn. Theo những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập, đột biến được cho phép hơn, nghĩa là, hạn chế hoặc không làm mất chức năng (ví dụ, tính đặc hiệu hoặc khả năng trung hòa) trong vùng sườn so với các vùng CDR.

Do đó, sáng chế bao gồm một kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong đó việc biến đổi từ các trình tự được cung cấp ở đây được ưu tiên hơn ở (các) vùng sườn của kháng thể hoặc ở các gốc axit nucleic mã hóa cho (các) vùng sườn của kháng thể.

Trong sáng chế này, các kháng thể (khác nhau) đã nêu được ưu tiên hơn, trong đó số các đột biến soma bị giảm đi (nghĩa là, các kháng thể "dòng mầm": quay trở lại cấu hình "dòng mầm"). Trình tự dòng mầm của kháng thể có thể được xác định, ví dụ, cùng với tham chiếu tới cơ sở dữ liệu IMGT (ví dụ, theo IMGT VDJ và VJ assignments and rearrangement interpretation: http://www.imgt.org/; cf. Lefranc, M.-P. et al. (2009) Nucleic Acids Res. 37, D1006-D1012) và cũng có thể sản xuất các biến thể kháng thể "dòng mầm", ví dụ, bằng cách tổng hợp gen hoặc đột biến định hướng. Đột biến soma ở mức độ thấp làm giảm khả năng gây miễn dịch kháng thể. Tốt hơn nếu, số lượng đột biến soma bi giảm đi trong vùng sườn (FR) (nghĩa là, kháng thể "dòng mầm vùng sườn", cũng được đề cập đến ở đây như là các biến thể FR-GL). Lần lượt các kháng thể (khác nhau), hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và các biến thể FR-GL không có đột biến soma ở vùng sườn được ưu tiên hơn. Đặc biệt ưu tiên là các kháng thể (khác nhau) đã nêu hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và các biến thể FR-GL có ít đột biến soma nhất có thể, trong đó nói cách khác hoạt tính trung hòa không bị giảm (so với kháng thể tham chiếu/mảnh chứa (nhiều) đột biến soma). Nói cách khác, các kháng thể đã nêu không bị giảm hoạt tính trung hòa của chúng, do đó chúng có hiệu lực và độ rộng phản ứng rất lớn. Mặt khác, khả năng gây miễn dịch của kháng thể bị giảm đi đáng kể.

Theo một phương án được ưu tiên, các kháng thể được phân lập hoặc mảnh

kháng thể theo sáng chế chứa ít nhất một vùng CDR có trình tự tương đồng ít nhất 95% với một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, hoặc 201-207. Các trình tự axit amin trên vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể theo sáng chế cũng như các trình tự axit nucleic mã hóa chúng được trình bày trong bảng trình tự và số SED ID dưới đây. Các gốc axit amin tương ứng với sáu vùng CDR và các gốc axit nucleic mã hóa chúng được in đậm.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh găn với kháng nguyên của nó, theo sáng chế chứa một hoặc nhiều CDR có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa hai vùng CDR có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, hoặc 201-207. Do đó, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm (i) một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trongSEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201 và CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trongSEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204; (ii) một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202, và CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206; hoặc (iii) một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, và CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa ba vùng CDR có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-

153, 165-171, 183-189, và 201-207. Do đó, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm (i) một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201, một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 hoặc (ii) một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204, một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206, và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa bốn vùng CDR có một trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207. Do đó, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm (i) một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201, một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 và một CDRL có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4-6, 20-22, 36-38, hoặc 52-54; (ii) một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204, một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206, và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ

ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201 và CDRH có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-3, 19-21, 37-39, 55-57, 75-77, 93-95, 111-113, 129-131, 147-149, 165-167, 183-185 hoặc 201-203, trong đó CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 được ưu tiên hơn; (iii) một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204 và một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204; và một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202 và một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206; (iv) một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201 và một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201; hoặc (v) một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202, và một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa năm

vùng CDR có một trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207. Do đó, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm năm vùng CDR được chọn từ nhóm bao gồm một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201, một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204, một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206, và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa sáu vùng CDR với một trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207. Do đó, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm sáu vùng CDR được chọn từ nhóm bao gồm một CDRH1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201, một CDRH2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202; và một CDRH3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, một CDRL1 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204, một CDRL2 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151,

152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206, và một CDRL3 có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, gồm: (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (ii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trongSEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (iv) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và 61 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (v) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vi) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (vii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (viii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin

CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129-133 và 135 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129-132 và 134-135; (ix) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147-151 và 153 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147-150 và 152-153; (x) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171; (xi) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; (xii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207.

Theo một phương án được ưu tiên đặc biệt trong sáng chế, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, chứa các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99.

Theo một phương án được ưu tiên khác trong sáng chế, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, chứa các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

Tốt hơn nữa nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, chứa: (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (ii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (iv) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và 61 hoặc trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (v) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vi) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (vii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (ix) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 147-150 hoặc trong SEQ ID NO: 152-153; (x) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 hoặc trong SEQ ID NO: 170-171; (xi) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; (xii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207.

Trong số các phương án được mô tả ở trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng

nguyên của nó, theo sáng chế chứa ít nhất một vùng CDR, nghĩa là chứa một, hai, ba, bốn, năm, sáu vùng CDR đã mô tả ở trên, phương án đã nêu được ưu tiên nếu kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa CDRH3 tương đồng ít nhất 95% với một trình tự trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế chứa một CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201 hoặc các biến thể trình tự của chúng; một CDR2 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202 hoặc các biến thể trình tự của chúng; một CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203 hoặc các biến thể trình tự của chúng. Theo các phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể như được đề cập đến ở đây gồm một chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong (i) SEQ ID NO: 1 cho CDRH1, SEQ ID NO: 2 cho CDRH2 và SEQ ID NO: 3 cho CDRH3, (ii) SEQ ID NO: 19 cho CDRH1, SEQ ID NO: 20 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 21 cho CDRH3, (iii) SEQ ID NO: 37 cho CDRH1, SEQ ID NO: 38 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 39cho CDRH3, (iv) SEQ ID NO: 55 cho CDRH1, SEQ ID NO: 56 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 57 cho CDRH3; (v) SEQ ID NO: 75 cho CDRH1, SEQ ID NO: 76 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 77 cho CDRH3; (vi) SEQ ID NO: 93 cho CDRH1, SEQ ID NO: 94 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 95 cho CDRH3; (vii) SEQ ID NO: 111 cho CDRH1, SEQ ID NO: 112 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 113 cho CDRH3; (viii) SEQ ID NO: 129 cho CDRH1, SEQ ID NO: 130 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 131 cho CDRH3; (ix) SEQ ID NO: 147 cho CDRH1, SEQ ID NO: 148 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 149 cho CDRH3; (x) SEQ ID NO: 165 cho CDRH1, SEQ ID NO: 166 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 167 cho CDRH3; (xi) SEQ ID NO: 183 cho CDRH1, SEQ ID NO: 184 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 185 cho CDRH3; hoặc (xii) SEQ ID NO: 201 cho CDRH1, SEQ ID NO: 202 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 203 cho CDRH3.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế chứa một CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204 hoặc các biến thể trình tự của chúng; một CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79,

80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206 hoặc các biến thể trình tự của chúng; một CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201 hoặc các biến thể trình tự của chúng. Theo các phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể như được đề cập đến ở đây gồm một chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong (i) SEQ ID NO: 4 cho CDRL1, SEQ ID NO: 5 hoặc 6 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 7 cho CDRL3; (ii) SEQ ID NO: 22 cho CDRL1, SEQ ID NO: 23 hoặc 24 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 25 cho CDRL3; (iii) SEQ ID NO: 40 cho CDRL1, SEQ ID NO: 41 hoặc 42 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 43 cho CDRL3; (iv) SEQ ID NO: 58 cho CDRL1, SEQ ID NO: 59 hoặc 60 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 61 cho CDRL3; (v) SEQ ID NO: 78 cho CDRL1, SEQ ID NO: 79 hoặc 80 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 81 cho CDRL3; (vi) SEQ ID NO: 96 cho CDRL1, SEQ ID NO: 97 hoặc 98 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 99 cho CDRL3; (vii) SEQ ID NO: 114 cho CDRL1, SEQ ID NO: 115 hoặc 116 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 117 cho CDRL3; (viii) SEQ ID NO: 132 cho CDRL1, SEQ ID NO: 133 hoặc 134 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 135 cho CDRL3; (ix) SEQ ID NO: 150 cho CDRL1, SEQ ID NO: 151 hoặc 152 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 152 cho CDRL3; (x) SEQ ID NO: 168 cho CDRL1, SEQ ID NO: 169 hoặc 170 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 171 cho CDRL3; (xi) SEQ ID NO: 186 cho CDRL1, SEQ ID NO: 187 hoặc 188 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 189 cho CDRL3; hoặc (xii) SEQ ID NO: 204 cho CDRL1, SEQ ID NO: 205 hoặc 206 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 207 cho CDRL3.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm một kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có các trình tự axit amin CDR1, CDR2 và CDR3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDR1, CDR2 và CDR3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, ví dụ 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo như gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, tốt hơn nếu theo như gRVC20 hoặc gRVC58. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó là

RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, hoặc RVC111, tốt hơn nếu là RVC20 hoặc RVC58.

Các tác giả sáng chế đã phân lập mười hai kháng thể đơn dòng (mAb), được đề cập đến ở đây là RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111 (tham khảo các ví dụ từ 1 đến 4). Dựa trên các kháng thể RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111, cụ thể là dựa trên các gen VH và VL của RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111, thuật ngữ gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, như được đề cập đến ở đây đề cập lần lượt đến các kháng thể "generic", hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có các trình tự axit amin đặc hiệu, được mã hóa bởi các trình tự nucleotit cụ thể, như được nêu bên dưới.

Như được sử dụng ở đây, "gRVA122" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 1, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 8, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 2, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 9, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 3, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 10, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 4, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 11, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 5 hoặc 6, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 12 hoặc 13, à một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 7, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO:14. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVA122" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 15, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 17, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVA122" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 16, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 18.

Như được sử dụng ở đây, "gRVA144" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 19, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 26, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 20, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ

ID NO: 27, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 21, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 28, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 22, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 29, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 23 hoặc 24, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 30 hoặc 31, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 25, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 32. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVA144" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 33, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 35, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVA144" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 34, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 36.

Như được sử dụng ở đây, "gRVA185" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 37, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 44, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 38, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 45, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 39, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 46, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 40, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 47, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 41 hoặc 42, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 48 hoặc 49, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 43, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 50. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVA185" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 51, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 52, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVA185" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 53, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 54.

Như được sử dụng ở đây, "gRVA492" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 55, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 62, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 56, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 63, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 57, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 64, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 58, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 65, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 59 hoặc 60, được mã hóa bởi trình tự

nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 66 hoặc 67, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 61, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 68. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVA492" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 69 hoặc 70, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 72 hoặc 73, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVA492" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 71, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 74.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC3" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 75, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 82, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 76, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 83, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 77, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 84, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 78, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 85, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 79 hoặc 80, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 86 hoặc 87, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 81, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 88. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC3" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 89, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 91, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC3" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 90, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 92.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC20" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 93, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 100, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 94, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 101, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 95, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 102, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 96, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 103, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 97 hoặc 98, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 104 hoặc 105, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 99, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 106. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC20" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 107, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 109, và vùng biến đổi

chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC20" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 108, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 110.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC21" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 111, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 118, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 112, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 119, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 113, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 120, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 114, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 121, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 115 hoặc 116, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 122 hoặc 123, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 117, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 124. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC21" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 125, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 127, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC21" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 126, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 128.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC38" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 129, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 136, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 130, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 137, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 131, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 138, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 132, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 139, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 133 hoặc 134, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 140 hoặc 141, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 135, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 142. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC38" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 143, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 145, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC38" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 144, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 146.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC44" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết

kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 147, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 154, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 148, được mã hóa bởi trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 155, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 149, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 156, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 150, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 157, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 151 hoặc 152, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 158 hoặc 159, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 153, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 160. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC44" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 161, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 163, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC44" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 162, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 164.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC58" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 165, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 172, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 166, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 173, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 167, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 174, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 168, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 175, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 169 hoặc 170, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 176 hoặc 177, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 171, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 178. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC58" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 179, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 181, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC58" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 180, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 182.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC68" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 183, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 190, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 184, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 191, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 185, được mã hóa bởi

trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 192, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 186, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 193, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 187 hoặc 188, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 194 hoặc 195, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 189, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 196. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC68" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 197, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 199, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC68" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 198, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 200.

Như được sử dụng ở đây, "gRVC111" đề cập đến kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 201, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 208, một trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 202, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 209, một trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 203, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 210, một trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 204, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 211, một trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 205 hoặc 206, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 112 hoặc 213, và một trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 207, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 214. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của "gRVC111" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 215, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 217, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của "gRVC111" có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 216, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 218.

Tốt hơn nếu, các kháng thể theo gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, tốt hơn nữa nếu theo gRVC20 và gRVC58 là các kháng thể loại IgG1.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế gồm chuỗi nặng chứa một hoặc nhiều (tức là một, hai hoặc ba) CDR chuỗi nặng từ gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, tốt hơn là từ gRVC20 và gRVC58.

Cũng được ưu tiên hơn là kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế gồm các CDR chuỗi nhẹ từ gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, ưu tiên hơn là từ gRVC20 và gRVC58.

Được ưu tiên, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế chứa cả ba vùng CDR của kháng thể RVC20 được liệt kê trong bảng 2 hoặc tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC58 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVA122 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVA144 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVB185 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVB492 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC3 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC21 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC38 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC44 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC68 đã liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các vùng CDR của kháng thể RVC111 đã liệt kê trong bảng 2.

Các số SEQ ID của trình tự axit amin thuộc vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trong kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế cũng như các số SEQ ID của trình tự axit nucleic mã hóa chúng được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3: Số SED ID của các gốc axit nucleic và axit amin thuộc V_H và V_L của

các kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế.

	Axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng	Axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ	Axit nucleic vùng biến đổi chuỗi nặng	Axit nucleic vùng biến đổi chuỗi nặng
RVA122	15	16	17	18
RVA144	33	34	35	36
RVB185	51	52	53	54
RVB492	69 hoặc 70	71	72 hoặc 73	74
RVC3	89	90	91	92
RVC20	107	108	109	110
RVC21	125	126	127	128
RVC38	143	144	145	146
RVC44	161	162	163	164
RVC58	179	180	181	182
RVC68	197	198	199	200
RVC111	215	216	217	218

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế gồm một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 33, 51, 69, 70, 89, 107, 125, 143, 161, 179, 197, hoặc 215. Theo một phương án khác, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế gồm một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 16, 34, 52, 71, 90, 108, 126, 144, 162, 180, 198, hoặc 216. Theo một phương án khác nữa, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết

kháng nguyên theo sáng chế gồm một vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn bất kỳ trong số các trình được trình bày trong các Fig từ 22 đến 33.

Các Fig từ 22 đến 33 lần lượt trình bày các trình tự axit amin của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong các kháng thể RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111, cũng như các trình tự axit nucleic mã hóa chúng. Trình tự axit amin của các vùng CDR và các trình tự axit nucleic mã hóa cho các vùng CDR được in đậm trong khi các trình tự axit amin của vùng sườn và các trình tự nucleic mã hóa cho vùng sườn được trình bày bằng kiểu chữ thẳng.

Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế gồm (i) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 15 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:16; hoặc (ii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 33 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 34; (iii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 51 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52; hoặc (iv) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (v) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (vi) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; hoặc (vii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108; hoặc (viii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; hoặc (ix) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144; hoặc (x) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 161 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162; hoặc (xi) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180; hoặc (xii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 và

một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198; hoặc (xiii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216.

Tốt hơn nữa nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế gồm (i) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 15 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16; hoặc (ii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 33 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 34; hoặc (iii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 51 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52; hoặc (iv) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (v) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (vi) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; hoặc (vii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108; hoặc (viii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; hoặc (ix) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144; hoặc (x) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 161 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162; hoặc (xi) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180; hoặc (xii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 và một vùng biến đổi

chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198; hoặc (xiii) một vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216.

Các kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, hoặc RVC111, tốt hơn nếu là RVC20 hoặc RVC58. Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể theo gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, tốt hơn nếu kháng thể theo gRVC20 hoặc gRVC58.

Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế có thể được sử dụng trong phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm gây ra bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV, tốt hơn nếu lây nhiễm gây ra bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV nhóm I, tốt hơn nữa nếu lây nhiễm gây ra bởi virut dại RABV và/hoặc EBLV-1. Mô tả chi tiết hơn về việc sử dụng các kháng thể này sẽ được mô tả bên dưới, ví dụ, trực tiếp ở bên dưới và trong phần nói về dược phẩm và việc sử dụng dược phẩm.

Tốt hơn nếu, việc sử dụng kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như đã mô tả ở trên, bao gồm việc cung cấp kháng thể đã nêu dưới dạng kết hợp với một kháng thể đơn dòng đã phân lập khác có khả năng trung hòa lây nhiễm lyssavirut và có chứa một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 167 và trong đó cả hai kháng thể đều gắn đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Khác thể còn lại, tức là kháng thể có khả năng trung hòa lây nhiễm lyssavirut và có chứa một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 167, cũng là kháng thể được ưu tiên hơn theo sáng chế.

Tốt hơn nếu, kháng thể còn lại, tức là kháng thể trung hòa lây nhiễm lyssavirut và có chứa một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID

NO: 167, gồm (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 hoặc (ii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể còn lại, tức là kháng thể trung hòa lây nhiễm lyssavirut và có chứa một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 167, gồm một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 hoặc SEQ ID NO: 179. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể còn lại, tức là kháng thể trung hòa lây nhiễm lyssavirut và có chứa một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 167, gồm (i) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108; hoặc (ii) một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180.

Nhờ đó, việc kết hợp các kháng thể được đề xuất dùng trong phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm gây ra bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV, tốt hơn nếu là lây nhiễm gây ra bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV nhóm I, tốt hơn nữa nếu là lây nhiễm gây ra bởi virut dại RABV và/hoặc EBLV-1, với ít nhất một kháng thể phổ rộng, bao gồm kháng thể trung hòa EBLV-1.

Tốt hơn nếu, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, gắn với vị trí kháng nguyên I hoặc III trên glycoprotein G của RABV và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, gắn với các vị trí kháng nguyên I hoặc III còn lại trên glycoprotein G của RABV.

Thú vị là, kháng thể kháng bệnh dại ở người hầu hết thường nhận biết các vị trí kháng nguyên I hoặc III trên glycoprotein G của RABV, trong khi đó, ví dụ, các kháng thể kháng bệnh dại ở chuột hầu hết thường nhận biết vị trị kháng nguyên II trên glycoprotein G của RABV. Giả định rằng, ưu thế sinh miễn dịch của vị trí kháng nguyên II ở người thấp hơn so với ở chuột (Kramer RA, Marissen WE, Goudsmit J, Visser TJ, Clijsters-Van der Hhoặcst M, Bakker AQ, de Jong M, Jongeneelen M, Thijsse S, Backus HH, Rice AB, Weldon WC, Rupprecht CE, Dietzschold B, Bakker AB, de Kruif J (2005) The human antibody repertoire specific fhoặc rabies virus glycoprotein as selected from immune libraries. Eur J Immunol. 35(7):2131-45). Theo đó, các tác giả sáng chế tin rằng việc kết hợp các kháng thể nhận biết các vị trí kháng nguyên I và III trên glycoprotein G của RABV có hiệu quả hơn so với ví dụ như, việc kết hợp các kháng thể nhận biết vị trí kháng nguyên II trên glycoprotein G của RABV.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, gồm một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 và trong đó kháng thể được cung cấp dưới dạng kết hợp còn lại gồm một CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, gồm các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99, và kháng thể được cung cấp dưới dạng kết hợp còn lại gồm các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, gồm một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108 và kháng thể được

cung cấp dưới dạng kết hợp còn lại gồm một vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và một vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, là theo gRVC20 và trong đó kháng thể được cấp cấp dưới dạng kết hợp còn lại là theo gRVC58.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, được cung cấp cùng một lúc hoặc được cung cấp lần lượt.

Lưu ý rằng, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, sẽ được cung cấp một cách riêng rẽ, ví dụ, trong từng dược phẩm riêng biệt, hoặc được kết hợp cùng với nhau, tức là như một "hỗn hợp" kháng thể, ví dụ, trong cùng một dược phẩm.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, sẽ được cung cấp một cách riêng rẽ. Nhờ đó, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, có thể được cung cấp cùng lúc hoặc được cung cấp lần lượt. Đối với trường hợp cung cấp lần lượt cả hai kháng thể, khoảng thời gian từ khi cung cấp kháng thể thứ nhất (khi cung cấp xong) đến khi cung cấp kháng thể thứ hai (khi bắt đầu) ví dụ, trong điều trị hoặc phòng ngừa sau phơi nhiễm với lây nhiễm lyssavirut, tốt hơn là không được quá một tuần, tốt hơn nữa nếu không quá 5 ngày, tốt hơn là không quá 3 ngày và tốt nhất là không quá 2 ngày, tốt hơn hết là không quá 1 ngày (24 giờ). Theo các phương án ưu tiên trong sáng chế, khoảng thời gian từ khi cung cấp kháng thể thứ nhất (khi cung cấp xong) đến khi cung cấp kháng thể thứ hai (khi bắt đầu) là không quá 12 giờ, tốt hơn là không quá 6 giờ, tốt hơn nữa là không quá 3 giờ, thậm chí là không quá 1 giờ, tốt hơn hết là không quá 30 phút, tốt nhất là không quá 10 phút. Cung cấp lần lượt trong đó một kháng thể được cung cấp ngay lập tức sau đó cung cấp một kháng thể còn lại được ưu tiên đặc biệt (cụ thể, điều này có nghĩa là cung cấp một trong các kháng thể bắt đầu sau không quá 10 phút kể từ khi cung cấp

xong kháng thể còn lại). Trong phương thức cung cấp lần lượt được mô tả ở trên, được ưu tiên hơn nếu kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở trên được cung cấp trước và kháng thể còn lại, được cung cấp dưới dạng kết hợp, được cung cấp sau. Trong phương thức cung cấp lần lượt được mô tả ở trên, cũng được ưu tiên hơn nếu kháng thể còn lại, là kháng thể được cung cấp dưới dạng kết hợp, được cung cấp trước và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây được cung cấp sau. Theo một phương án được ưu tiên trong sáng chế, kháng thể, cụ thể là kháng thể theo gRVC20, được cung cấp trước và kháng thể, cụ thể là kháng thể theo gRVC58, được cung cấp sau như đã mô tả ở trên. Theo một phương án được ưu tiên khác trong sáng chế, kháng thể, là kháng thể theo gRVC58, được cung cấp trước và kháng thể, là kháng thể theo gRVC20, được cung cấp sau như đã mô tả ở trên.

Cũng được ưu tiên là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp cùng dưới dạng kết hợp, được cung cấp như một hỗn hợp kháng thể, ví dụ trong cùng một dược phẩm như được mô tả ở đây.

Tốt hơn nếu, là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở đây và kháng thể còn lại, được cung cấp cùng ở dạng kết hợp, được cung cấp ở các lượng đẳng mol.

Sáng chế còn bao gồm một kháng thể hoặc mảnh của nó và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế gắn vào cùng một quyết định kháng nguyên (epitop), hoặc một kháng thể cạnh tranh với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế.

Tốt hơn nếu, quyết định kháng nguyên (epitop) này là vị trí kháng nguyên III.2, B, hoặc C trên G protein (glycoprotein G) của RABV. Cả hai loại kháng thể CR57 và CR4098 đều không gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) này, nhưng chúng lại lần lượt gắn với vị trí kháng nguyên I và III. Tuy nhiên, một vài kháng thể theo sáng chế, cụ thể là RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 gắn với vị trí kháng nguyên III.2 trên G protein của RABV. Vị trí kháng nguyên III.2 mới gần với vị trí kháng nguyên III trên G prtein của RABV (tham khảo ví dụ 3). Theo đó ba vị trí kháng nguyên bổ sung mới có cùng tiêu chuẩn được đặt tên là A, B và C. Vị trí B

được xác định là bởi kháng thể RVC44, mà khả năng gắn kết của nó không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào khác trong tập hợp các kháng thể. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể là RVB143 và RVC68, là những kháng thể chỉ nhận biết một epiotp duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể còn lại. Lưu ý rằng, chỉ có các kháng thể RVC44, RVB143 và RVC68 trong tập hợp các kháng thể có khả năng gắn kết bằng western blot với protein G dưới các điều kiện khử, điều này đưa ra giả thuyết rằng chúng nhận biết quyết định kháng nguyên (epitop) bậc một trên protein G của RABV (tham khảo ví dụ 3).

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế và kháng thể đã mô tả ở trên gắn với cùng quyết định kháng nguyên (epitop) cũng trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV và lây nhiễm gây ra bởi ít nhất 50% các lyssavirut DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV không phải RABV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 mg/ml, nhờ đó các phương án được ưu tiên mô tả ở trên đối với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có khả năng trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV và lây nhiêm gây ra ít nhất 50% các lyssavirutDUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV không phải RABV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 mg/ml cũng được áp dụng với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế cùng với kháng thể đã mô tả ở trên gắn vào cùng quyết định kháng nguyên (epitop).

Các kháng thể theo sáng chế cũng bao gồm các phân tử kháng thể lại có khả năng trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV và lây nhiễm gây ra bởi ít nhất 50% các lyssavirut DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV không phải RABV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 mg/ml như đã mô tả ở trên và kháng thể lai này chứa một hoặc nhiều vùng CDR từ kháng thể theo sáng chế và một hoặc nhiều vùng CDR từ kháng thể khác gắn vào cùng quyết định kháng nguyên (epitop). Theo một phương án, các kháng thể lai đã nêu chứa 3 vùng CDR từ kháng thể theo sáng chế và ba vùng CDR từ kháng thể khác gắn vào cùng quyết định kháng nguyên (epitop). Các kháng thể lai được lấy làm ví dụ có chứa (i) ba vùng CDR chuỗi nặng từ kháng thể theo sáng chế và ba vùng CDR chuỗi nhẹ từ kháng thể khác gắn vào cùng quyết định kháng nguyên (epitop), hoặc (ii) ba vùng CDR chuỗi nhẹ từ kháng thể theo sáng chế và ba vùng CDR chuỗi nặng từ kháng thể khác gắn vào

cùng quyết định kháng nguyên (epitop).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nuleic chứa chuỗi polynucleotit mã hóa cho kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế như đã mô tả ở trên. Các trình tự axit nucleic mã hóa một phần hoặc toàn bộ chuỗi nặng và chuỗi nhẹ và các vùng CDR của kháng thể theo sáng chế được ưu tiên hơn. Do đó, tốt hơn nếu sáng chế đề xuất các trình tự axit nucleic mã hóa một phần hoặc toàn bộ chuỗi nhẹ và chuỗi nặng và các vùng CDR của kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế. Bảng 3 ở trên cung cấp các số SEQ ID của trình tự axit nucleic mã hóa cho các vùng biến đổi chuỗi nặng và các vùng biến đổi chuỗi nhẹ của một vài kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế. Bảng 4 bên dưới cung cấp các số SEQ ID của các trình tự axit nucleic mã hóa cho các vùng CDR của một vài kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế. Do tính thoái hóa của mã di truyền nên sẽ xuất hiện các biến thể của trình tự axit nucleic này để mã hóa cho các trình tự axit amin giống nhau.

Do đó, sáng chế cũng bao gồm một phân tử axit nucleic có chứa chuỗi polynucleotit mã hóa cho kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế.

Phân tử axit nucleic là phân tử có chứa, tốt hơn nếu có chứa các thành phần axit nucleic. Thuật ngữ phân tử axit nucleic đề cập đến các phân tử ADN hoặc ARN. Tốt hơn nếu nó được sử dụng đồng nghĩa với thuật ngữ "chuỗi polynucleotit". Tốt hơn nếu phân tử axit nucleic là chuỗi polyme có chứa hoặc gồm các momone nucleotit liên kết cộng hóa trị với nhau bằng liên kết phosphodiest của bộ khung đường/phosphat. Thuật ngữ "phân tử axit nucleic" cũng bao gồm các phân tử axit nucleic bị đột biến, chẳng hạn như phân tử ADN hoặc ARN biến đổi gốc bazơ, biến đổi gốc đường hoặc biến đổi bộ khung.

Bảng 4: các số SEQ ID của các chuỗi polynucleotit CDR trong các kháng thể được lấy làm ví dụ theo sáng chế.

	SEQ ID của các chuỗi polynucleotit CDR					
	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
RVA122	8	9	10	11	12 hoặc 13	14

RVA144	26	27	28	29	30 hoặc 31	32
RVB185	44	45	46	47	48 hoặc 49	50
RVB492	62	63	64	65	66 hoặc 67	68
RVC3	82	83	84	85	86 hoặc 87	88
RVC20	100	101	102	103	104 hoặc 105	106
RVC21	118	119	120	121	122 hoặc 123	124
RVC38	136	137	138	139	140 hoặc 141	142
RVC44	154	155	156	157	158 hoặc 159	160
RVC58	172	173	174	175	176 hoặc 177	178
RVC68	190	191	192	193	194 hoặc 195	196
RVC111	208	209	210	211	212 hoặc 213	214

Tốt hơn nếu, trình tự polynucleotit của phân tử axit nucleic theo sáng chế tương đồng ít nhất 75% với trình tự axit nucleic của một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 8-14, 17, 18, 26-32, 35, 36, 44-50, 53, 54, 62-68, 72-74, 82-88, 91, 92, 100-106, 109, 110, 118-124, 127, 128, 136-142, 145, 146, 154-160, 163, 164, 172-178, 181, 182, 190-196, 199, 200, 208-214, 217 hoặc 218. Tốt hơn nếu, trình tự polynucleotit của phân tử axit nucleic theo sáng chế là một trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 8-14, 17, 18, 26-32, 35, 36, 44-50, 53, 54, 62-68, 72-74, 82-88, 91, 92, 100-106, 109, 110, 118-124, 127, 128, 136-142, 145, 146, 154-160, 163, 164, 172-178, 181, 182, 190-196, 199, 200, 208-214, 217 hoặc 218, hoặc các biến thể trình tự của chúng.

Cũng được ưu tiên là, các trình tự axit nucleic theo sáng chế gồm các trình tự axit nucleic tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 88%, ít nhất 90%, ít nhất 92%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99% với phân tử axit nucleic mã hóa cho vùng biến đổi của chuỗi nặng hoặc

chuỗi nhẹ trong kháng thể theo sáng chế. Theo một phương án khác, trình tự axit nucleic theo sáng chế chứa trình tự axit nucleic mã hóa cho CDR chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, các trình tự axit nucleic theo sáng chế bao gồm một trình tự tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 88%, ít nhất 90%, ít nhất 92%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99% với trình tự axit nucleic nêu trong SEQ ID NO: 8-14, 17, 18, 26-32, 35, 36, 44-50, 53, 54, 62-68, 72-74, 82-88, 91, 92, 100-106, 109, 110, 118-124, 127, 128, 136-142, 145, 146, 154-160, 163, 164, 172-178, 181, 182, 190-196, 199, 200, 208-214, 217 hoặc 218.

Theo một phương án khác nữa, trình tự axit nucleic theo sáng chế bao gồm các trình tự axit nucleic tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 88%, ít nhất 90%, ít nhất 92%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99% với trình tự axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ trong kháng thể được trình bày trong các Fig từ 22 đến 33.

Nhìn chung, phân tử axit nucleic có thể bị xử lý để thêm, bớt, hoặc thay thế các trình tự axit nucleic nhất định. Các đột biến từ những xử lý trên bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, đột biến để tạo ra các vị trí giới hạn, để thay đổi khả năng mã, để thêm hoặc tối ưu hóa các trình tự điều hòa phiên mã và/hoặc dịch mã, v.v.. Cũng có thể đột biến axit nucleic để thay thế các axit amin được mã hóa. Ví dụ, có thể sử dụng để tạo ra một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, v.v.) đột biến thay thế axit amin, mất và/hoặc thêm axit amin vào trình tự axit amin của kháng thể. Các đột biến điểm đã nêu có thể làm thay đổi chức năng của cơ quan phản ứng lại kích thích, thay đổi ái lực gắn kết kháng nguyên, biến đổi sau dịch mã, tính sinh miễn dịch, v.v., có thể tạo ra các axit amin dùng để gắn các nhóm cộng hóa trị (ví dụ, các nhãn gắn) hoặc có thể tạo thành các đuôi (ví dụ, dùng cho mục đích tinh sạch). Có thể được tạo đột biến tại các vị trí nhất định hoặc có thể được tạo ra ngẫu nhiên, sau đó chọn lọc (ví dụ, tiến hóa phân tử). Ví dụ, một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa cho các vùng CDR bất kỳ, các vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể có thể bị đột biến ngẫu nhiên hoặc đột biến định hướng để tạo ra các đặc tính khác nhau trong các axit amin được mã hóa. Các đột biến đã nêu là kết quả của quá trình lặp đi lặp lại trong đó các đột biến đầu tiên được giữ lại và các đột biến mới tại các vị trí nucleotit khác được tạo ra. Ngoài ra, các đột biến thu được từ các bước độc lập có thể được kết hợp lại.

Các đặc tính khác nhau được tạo ra trong các axit amin được mã hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ái lực được tăng lên.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là các vectơ, ví dụ, các vectơ biểu hiện, có chứa trình tự axit nucleic theo sáng chế. Tốt hơn nếu, vectơ có chứa trình tự axit nucleic theo sáng chế, phân tử axit nucleic đã mô tả ở trên.

Thuật ngữ "vectơ" đề cập đến phân tử axit nucleic, tốt hơn nếu đề cập đến một phân tử axit nucleic nhân tạo, nghĩa là, phân tử axit nucleic không có trong tự nhiên. Vectơ theo như ngữ cảnh này của sáng chế phù hợp để dung hợp hoặc chứa một trình tự axit nucleic mong muốn. Các vectơ đã nêu có thể là các vectơ lưu trữ, vectơ biểu hiện, vectơ tách dòng, vectơ chuyển gen, v.v.. Vectơ lưu trữ là vectơ cho phép lưu trữ thuận lợi một phân tử axit nucleic. Do đó, vectơ có thể bao gồm một trình tự tương ứng, ví dụ, một kháng thể mong muốn hoặc mảnh kháng thể của nó theo sáng chế. Một vectơ biểu hiện được sử dụng để sản xuất hoặc biểu hiện sản phẩm chẳng hạn như ARN, ví dụ mARN, hoặc peptit hoặc chuỗi polypeptit hoặc các protein. Ví dụ, một vectơ biểu hiện có thể chứa các trình tự cần thiết đối với quá trình phiên mã của một trình tự co dãn của vectơ, chẳng hạn như trình tự khởi động. Một vectơ tách dòng thường là một vectơ có chứa một vị trí sao chép, được sử dụng để gắn trình tự axit nucleic vào trong vectơ. Một vectơ tách dòng có thể là, ví dụ, một vectơ plasmid, hoặc một vectơ thực khuẩn thể. Vectơ chuyển gen là vectơ thích hợp để chuyển phân tử các axit nucleic vào trong các tế bào hoặc cơ quan, ví dụ, vectơ virut. Vectơ trong ngữ cảnh này của sáng chế có thể là vectơ ARN hoặc vectơ ADN. Tốt hơn nếu, vectơ là một phân tử ADN. Ví dụ, một vectơ có cấu tạo gồm một vị trí sao chép, một chất chỉ chị để chọn lọc, chẳng hạn như các yếu tố kháng kháng sinh, và một trình tự phù hợp với việc nhân lên của vectơ, chẳng hạn như trình tự khởi đầu phiên mã. Tốt hơn nếu, các vectơ trong sáng chế là các vectơ plasmid.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là các tế bào được biến nạp với các vectơ đã nêu. Các ví dụ về tế bào như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tế bào nhân thực, ví dụ, tế bào nấm men, tế bào động vật hoặc tế bào thực vật. Theo một phương án, các tế bào là các tế bào động vật có vú, ví dụ như các tế bào người, CHO, HEK293T, PER.C6, NS0, myeloma hoặc các tế bào lai. Theo đó, sáng chế cũng đề cập tới các tế bào biểu hiện kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể

theo sáng chế, hoặc chứa vectơ theo sáng chế.

Cụ thể là, tế bào được chuyển nhiễm với vectơ theo sáng chế, tốt hơn nếu được chuyển nhiễm với vectơ biểu hiện. Thuật ngữ "chuyển nhiễm" dùng để chỉ việc đưa các phân tử axit nucleic chẳng hạn như ADN hoặc ARN (ví dụ, mARN) vào trong tế bào, tốt hơn nếu vào trong tế bào nhân thực. Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "chuyển nhiễm" bao gồm bất kỳ phương pháp đã biết bởi những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập để đưa phân tử axit nucleic vào trong tế bào, tốt hơn nếu vào trong các tế bào nhân thực, chẳng hạn như tế bào động vật có vú. Các phương pháp như vậy bao gồm, ví dụ, kỹ thuật điện di electroporation, lipofection (đưa vật liệu di truyền vào tế bào bằng lyposom), ví dụ, dựa trên lipit và/hoặc liposom ion dương, kết tủa canxi phosphat, chuyễn nhiễm nhờ các hạt nano, chuyển nhiễm nhờ vào virut, chuyển nhiễm nhờ các polyme ion dương, chẳng hạn như DEAE-dextran hoặc polyethylenimin, v.v.. Tốt hơn nếu, việc đưa vào không phải là virut.

Sáng chế cũng đề cập đến các kháng thể đơn dòng gắn vào một quyết định kháng nguyên (epitop) có khả năng gắn với các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo đó, sáng chế bao gồm một chuỗi polypeptit sinh miễn dịch đã phân lập hoặc tinh sạch có chứa một quyết định kháng nguyên (epitop) gắn đặc hiệu với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế. Peptit gây miễn dịch đã nêu theo sáng chế có thể được sử dụng trong vacxin, ví dụ, dùng trong vacxin mà vacxin này kết hợp với các kháng thể theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất các quyết định kháng nguyên (epitop) mới mà các kháng thể trung hòa theo sáng chế gắn vào. Các quyết định kháng nguyên (epitop) này, cụ thể là vị trí kháng nguyên III.2, B và C, được tìm thấy trên G protein (glycoprotein G) của RABV như đã mô tả ở trên.

Các quyết định kháng nguyên (epitop) mà kháng thể theo sáng chế gắn vào có cấu hình bậc 1 (liên lục) hoặc bậc 3 (không liên tục). Tốt hơn nếu, các kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) có cấu hình bậc 3, tốt hơn nữa nếu quyết định kháng nguyên (epitop) cấu hình bậc 3 chỉ xuất hiện ở các điều kiện không khử. Tuy nhiên, đặc biệt là với các vị trí kháng nguyên B và C như đã mô tả ở trên, các kháng thể và các mảnh kháng thể theo sáng chế cũng có thể

gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) bậc 1, tốt hơn nếu gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) bậc 1 xuất hiện ở cả hai điều kiện khử và không khử.

Các kháng thể đơn dòng và kháng thể tái tổ hợp đặc biệt hữu ích trong việc nhận biết và tinh sạch các chuỗi polypeptit riêng rẽ hoặc các kháng nguyên khác kháng lại cái mà chúng gắn vào. Các kháng thể theo sáng chế còn có thêm công dụng đó là chúng được dùng làm thuốc thử trong các thử nghiệm miễn dịch, thử nghiệm miễn dịch học phóng xạ (radioimmunoassays - RIA) hoặc thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (enzym-linked immunoshoặcbent assays - ELISA). Trong các thử nghiệm này, kháng thể có thể gắn nhãn với thuốc thử có thể phát hiện để phân tích được như chất đồng vị phóng xạ, phân tử huỳnh quang hoặc một enzym. Các kháng thể cũng có thể được sử dụng để nhận biết và xác định đặc tính (bản đồ quyết định kháng nguyên (bản đồ epitop)) của các kháng nguyên.

Các kháng thể theo sáng chế cũng có thể bắt cặp với thuốc để di chuyển tới các vị trí điều trị hoặc bắt cặp với một nhãn đánh dấu có thể phát hiện để dễ dàng nhận biết vị trí có tế bào quan tâm, chẳng hạn như các tế bào bị lây nhiễm với RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Các phương pháp để kết hợp các kháng thể với thuốc và các nhãn đánh dấu có thể phát hiện là các kiến thức đã biết đối với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập, chẳng hạn như các phương pháp tạo ảnh sử dụng các nhãn đánh dấu có thể phát hiện. Các kháng thể được gắn nhãn được sử dụng trong nhiều thử nghiệm khác nhau, sử dụng nhiều nhãn đánh dấu khác nhau. Có thể dễ dàng phát hiện ra sự tạo thành của phực hợp kháng thể-kháng nguyên giữa kháng thể theo sáng chế và một quyết định kháng nguyên (epitop) quan tâm (là quyết định kháng nguyên (epitop) của RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV) bằng cách gắn một cơ chất có thể phát hiện vào kháng thể. Các phương pháp phát hiện thích hợp bao gồm sử dụng các nhãn đánh dấu như nuclit phóng xạ, enzym, coenzym, chất phát huỳnh quang, chất phát quang hóa học, chất tạo hợp chất màu, các cơ chất enzym hoặc các đồng yếu tố (co- factor), chất ức chế enzym, các phức hợp nhóm prosthetic, các gốc tự do, các hạt, thuốc nhuộm, và các chất tương tự. Các ví dụ về enzym thích hợp bao gồm enzym peroxidaza củ cải ngựa, alkalin phosphataza, β-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteraza; các ví dụ về phức hợp nhóm prosthetic thích hợp bao gồm streptavidin/biotin và avidin/biotin; các ví dụ về chất

phát huỳnh quang thích hợp bao gồm umbelliferon, fluorescein, fluorescein isothiocyanat, rhodamin, diclortriazinylamin fluorescein, dansyl clorit hoặc phycoerythrin, một ví dụ về chất phát quang là luminol; các ví dụ về các chất phát quang sinh học bao gồm luciferaza, luciferin, và aequorin; và các ví dụ về các chất phóng xạ bao gồm 125I, 131I, 35S, hoặc 3H. Các thuốc thử được gắn nhãn được sử dụng nhiều trong các thử nghiệm đã biết, chẳng hạn như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, thử nghiệm miễn dịch enzym, ví dụ, ELISA, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang và các thử nghiệm tương tự (xem trong các bằng sáng chế Mỹ số US 3,766,162; US 3,791,932; US 3,817,837; và US 4,233,402).

Kháng thể theo sáng chế có thể liên hợp với một nhóm trị liệu chẳng hạn chất gây độc tế bào, một tác nhân trị liệu, hoặc một ion kim loại phóng xạ hoặc đồng vị phóng xạ. Các ví dụ về đồng vị phóng xạ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212, Bi-213, Pd-109, Tc-99, In-111, và các chất tương tự. Các liên hợp kháng thể như vậy được sử dụng để làm biến đổi phản ứng sinh học nhất định; phân nhóm thuốc không chỉ nên hiểu là giới hạn ở các tác nhân trị liệu hóa học cổ điển. Ví dụ, phân nhóm thuốc có thể là protein hoặc chuỗi polypeptit có hoạt tính sinh học mong muốn. Các protein như vậy bao gồm, ví dụ, một độc tố, chẳng hạn như abrin, ricin A, nội độc tố pseudomonas, hoặc độc tố diphtheria.

Các kỹ thuật để liên hợp nhóm trị liệu với kháng thể là những kỹ thuật đã biết. Xem, ví dụ, Arnon et al. (1985) “Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy,” in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, ed. Reisfeld et al. (Alan R. Liss, Inc.), pp. 243-256; ed. Hellstrom et al. (1987) “Antibodies for Drug Delivery,” in Controlled Drug Delivery, ed. Robinson et al. (2d ed; Marcel Dekker, Inc.), pp. 623-653; Thorpe (1985) "Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, ed. Pinchera et al. pp. 475-506 (Editrice Kurtis, Milano, Italy, 1985); “Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy,” in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy, ed. Baldwin et al. (Academic Press, New York, 1985), pp. 303-316; and Thorpe et al. (1982) Immunol. Rev. 62:119-158.

Ngoài ra, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có thể được liên hợp với kháng thể thứ hai hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để tạo thành kháng thể liên hợp đồng nhất như đã mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số US 4,676,980. Ngoài ra, có thể sử dụng các liên kết giữa các nhãn gắn và các kháng thể theo sáng chế (ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số US 4,831,175). Các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có thể gắn trực tiếp với iodine, indium, yttrium phóng xạ hoặc các hạt phóng xạ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số US 5,595,721). Việc điều trị bao gồm việc kết hợp điều trị với các kháng thể liên hợp hoặc kháng thể không liên hợp, cung cấp cùng lúc hoặc cung cấp lần lượt. (ví dụ, WO00/52031; WO00/52473).

Các kháng thể theo sáng chế cũng có thể gắn với một chất mang rắn. Ngoài ra, các kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh kháng thể mang chức năng của nó, bị biến đổi hóa học bằng cách liên hợp cộng hóa trị với một polyme, ví dụ, để tăng thời gian tồn tại của chúng. Các ví dụ về các polyme, và các phương pháp để gắn chúng với chuỗi peptit, được trình bày trong các bằng sáng chế Mỹ số US 4,766,106; US 4,179,337; US 4,495,285 và US 4,609,546. Theo một vài phương án, các polyme được chọn từ các polyol polyoxyethylat hóa và polyethylen glycol (PEG). PEG tan trong nước ở nhiệt độ phòng và có công thức hóa học chung là: $R(O\text{-}CH2\text{-}CH2)_nO\text{-}R$ trong đó R có thể là hidro, hoặc một nhóm bảo vệ chẳng hạn như nhóm alkyl hoặc alkanol. Tốt hơn nếu, nhóm bảo vệ có từ 1 đến 8 nguyên tử cacbon. Ví dụ, nhóm bảo vệ là metyl. Kí hiệu n chỉ một số nguyên dương. Theo một phương án, n nằm trong khoảng từ 1 đến 1.000. Theo một phương án khác, n nằm trong khoảng từ 2 đến 500. Tốt hơn nếu, PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 1.000 đến 40.000, tốt hơn nữa nếu, PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 2.000 đến 20.000, tốt nhất là PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 3.000 đến 12.000. Ngoài ra, PEG có thể có ít nhất một nhóm hydroxyl, ví dụ PEG có thể có đuôi là nhóm hydroxyl. Ví dụ, nhóm hydroxyl ở đuôi được hoạt hóa để phản ứng với nhóm amino tự do trong chất ức chế. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, có thể thay đổi loại và hàm lượng nhóm phản ứng để thu được PEG/kháng thể liên hợp cộng hóa trị theo sáng chế.

Polyol polyoxyethylat hóa tan trong nước cũng rất hữu ích trong sáng chế. Chúng bao gồm, sorbitol polyoxyethylat hóa, glucozơ polyoxyethylat hóa, glyxerol polyoxyethylat hóa (POG), và các chất tương tự. Theo một phương án, POG được sử

dụng. Không bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, bởi vì bộ khung glyxerol của glyxerol polyoxyethylat hóa giống với bộ khung xuất hiện tự nhiên ở, ví dụ, người và động vật trong mono-, di-, triglyxerit, không nhất thiết phải xem phân nhánh này là một tác nhân ngoại lại trong cơ thể. POG có thể có khối lượng phân tử tương tự như PEG. Một hệ phân phối thuốc khác có thể sử dụng để tăng thời gian tồn tại là lyposom. Các phương pháp tạo ra hệ phân phối lyposom là các kiến thức đã biết đối với những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các hệ phân phối thuốc khác cũng là những kiến thức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả trong, ví dụ Poznansky et al. (1980) và Poznansky (1984).

Các kháng thể theo sáng chế được cung cấp dưới dạng đã tinh sạch. Thông thường, kháng thể có mặt trong hợp chất về cơ bản sẽ không chứa các polypeptit khác, vi dụ, dưới 90% (trọng lượng), thường là dưới 60%, và thường xuyên hơn là dưới 50% hợp chất được tạo thành từ các polypeptit khác.

Các kháng thể theo sáng chế có thể gây miễn dịch ở vật chủ không phải con người (hoặc khác loại) ví dụ, chuột. Cụ thể là, các kháng thể có thể có một idiotop gây miễn dịch ở vật chủ không phải con người nhưng không gây miễn dịch người. Các kháng thể theo sáng chế dùng cho con người bao gồm các kháng thể khó phân lập từ các vật chủ, chẳng hạn như chuột nhà, dê, thỏ, chuột nhắt, động vật có vú không phải loài linh trưởng, v.v. và thường không thu được bằng cách nhân bản hoặc từ chuột nhà dị sinh.

Kháng thể theo sáng chế có thể là loại bất kỳ (*ví dụ*, IgA, IgG, IgM nghĩa là chuỗi nặng α, γ hoặc μ), tuy nhiên tốt hơn nếu là IgG. Trong nhóm IgG, các kháng thể có thể là phân nhóm IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4, trong đó IgG1 được ưu tiên hơn. Các kháng thể theo sáng chế cũng có thể chứa chuỗi nhẹ κ hoặc λ

Sản xuất kháng thể

Các kháng thể theo sáng chế có thể được sản xuất theo bất kỳ phương pháp nào đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, phương pháp thông thường để sản xuất kháng thể đơn dòng sử dụng kỹ thuật lai là những kiến thức đã biết (Kohler, G. và Milstein, C,. 1975; Kozbar et al. 1983). Theo một phương án, sử dụng phương pháp làm bất tử EBV thay thế được miêu tả trong WO2004/076677.

Sử dụng phương pháp được mô tả trong WO2004/076677, các tế bào B sản xuất kháng thể theo sáng chế được biến nạp với EBV và một chất hoạt hóa tế bào B đa dòng. Có thể tùy ý bổ sung thêm các chất kích thích sinh trưởng và biệt hóa tế bào trong suốt quá trình biến nạp để làm tăng hiệu quả biến nạp. Các chất kích thích có thể là các cytokin chẳng hạn như IL 2 và IL-15. Theo một khía cạnh, IL-2 được thêm vào trong suốt quá trình làm bất tử để làm tăng hiệu quả gây bất tử, tuy nhiên, việc sử dụng chất này là không cần thiết. Sau khi tạo ra các tế bào B bất tử, có thể nuôi cấy các tế bào này sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và tiến hành phân lập kháng thể từ các tế bào này.

Sử dụng phương pháp được mô tả trong WO 2010/046775, các tế bào huyết huyết tương được nuôi cấy với một số lượng hạn chế, hoặc từng tế bào huyết tương riêng rẽ được nuôi cấy trong các đĩa siêu nhỏ. Phân lập kháng thể từ môi trường nuôi cấy tế bào huyết tương. Ngoài ra, từ môi trường nuôi cấy tế bào huyết tương, thu lấy các ARN và tiến hành phản ứng PCR sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) của kháng thể được khuếch đại bằng phản ứng RT-PCR (PCR phiên mã ngược), giải trình tự và được tách dòng vào trong các vectơ biểu hiện, vectơ này sau đó được biến nạp vào các tế bào HEK293T hoặc tế bào chủ khác. Việc tách dòng axit nuleic trong vectơ biểu hiện, biến nạp vào tế bào chủ, nuôi cấy các tế bào chủ đã biến nạp và phân lập các kháng thể được tạo ra được thực hiện sử dụng các phương pháp đã biết đối với những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các kháng thể tiếp tục được tinh sạch, nếu muốn, sử dụng phương pháp lọc, ly tâm, và các phương pháp sắc ký khác nhau chẳng hạn như phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC hoặc phương pháp sắc ký ái lực. Các kỹ thuật được sử dụng để tinh sạch kháng thể, ví dụ, kháng thể đơn dòng, bao gồm các kỹ thuật dùng để sản xuất kháng thể cấp dược phẩm, là các kiến thức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Có thể thu được các mảnh kháng thể theo sáng chế từ kháng thể bằng các phương pháp bao gồm thủy phân với enzym, chẳng hạn enzym pepsin hoặc papain, và/hoặc bằng cách cắt đứt liên kết disulfit phản ứng khử hóa học. Ngoài ra, có thể thu được các mảnh kháng thể bằng cách tách dòng và biểu hiện một phần trình tự của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. "Các mảnh" kháng thể bao gồm Fab, Fab', F(ab')2 và các

mảnh Fv. Sáng chế cũng bao gồm các mảnh Fv chuỗi đơn (scFv) có nguồn gốc từ chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, kháng thể bao gồm scFV chứa các vùng CDR từ kháng thể theo sáng chế. Sáng chế cũng bao gồm các monome và dime chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, các kháng thể chỉ chứa vùng chuỗi nặng, kháng thể chỉ chứa vùng chuỗi nhẹ, cũng như các kháng thể chuỗi đơn, ví dụ, Fv chuỗi đơn Fv trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ liên kết với nhau bằng liên kết peptit.

Các mảnh kháng thể theo sáng chế có thể truyền các tương tác đơn trị hoặc đa trị và có thể có nhiều cấu trúc khác nhau như được mô tả ở trên. Ví dụ, các phân tử scFv được tổng hợp để tạo thành các "kháng thể ba" hóa trị ba hoặc tạo thành"kháng thể bốn" hóa trị bốn. Các phân tử scFv có cấu tạo gồm một đoạn thuộc vùng Fc tạo ra kháng thể có kích thước nhỏ hóa trị hai. Ngoài ra, các trình tự theo sáng chế có thể là một thành phần của phân tử đa đặc hiệu trong đó các trình tự theo sáng chế nhắm tới các quyết định kháng nguyên (epitop) trong sáng chế và các vùng khác của phân tử gắn với các đích khác. Các phân tử được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Fab2 song đặc hiêu, Fab3 tam đặc hiệu, và scFv song đặc hiệu và kháng thể hai (Holliger và Hudson, 2005, Nature Biotechnology 9: 1126-1136).

Có thể sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn để tạo ra trình tự ADN mã hóa cho kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế. Trình tự ADN mong muốn được tổng hợp toàn bộ hoặc tổng hợp một phần sử dụng kỹ thuật tổng hợp oligonucleotit. Kỹ thuật tạo đột biến điểm (Site-directed mutagenesis) và phản ứng chuỗi polymerase (Polymerase Chain Reaction- PCR) cũng có thể sử dụng khi thích hợp.

Có thể sử dụng bất kỳ hệ vecto/tế bào chủ nào phù hợp để biểu hiện trình tự ADN mã hóa cho phân tử kháng thể theo sáng chế hoặc các mảnh của nó. Vi khuẩn, ví dụ, E. coli và hệ vi khuẩn khác cũng được sử dụng, một phần, trong việc biểu hiện các mảnh kháng thể, chẳng hạn như các mảnh Fab và F(ab')2 và đặc biệt là mảnh Fv và các mảnh kháng thể chuỗi đơn, ví dụ, các mảnh Fv chuỗi đơn. Tế bào nhân thực, ví dụ, tế bào động vật có vú, hệ biểu hiện tế bào chủ có thể sử dụng để sản xuất các phân tử kháng thể lớn bao gồm các toàn bộ phân tử kháng thể. Tế bào động vật có vú phù hợp bao gồm CHO, HEK293T, PER.C6, NS0, myeloma hoặc tế bào lai.

Sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất phân tử kháng thể theo sáng chế bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ chứa vectơ mã hóa cho axit nucleic theo sáng chế trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện protein từ ADN mã hóa cho phân tử kháng thể theo sáng chế, và bước phân lập kháng thể.

Phân tử kháng thể có thể chỉ chứa một polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, trong trường hợp này chỉ chứa polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ mã hóa cho trình tự cần sử dụng để biến nạp vào tế bào chủ. Để sản xuất các sản phẩm có chứa cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, dòng tế bào phải được biến nạp với hai vectơ, vectơ thứ nhất mã hóa cho polypeptit chuỗi nhẹ và vectơ thứ hai mã hóa cho polypeptit chuỗi nặng. Ngoài ra, cũng có thể sử dụng một vectơ, vectơ này chứa các trình tự mã hóa cho polypeptit chuỗi nhẹ và polypeptit chuỗi nặng.

Ngoài ra, các kháng thể theo sáng chế cũng được sản xuất bằng cách (i) biểu hiện trình tự axit nucleic theo sáng chế trong tế bào chủ, và (ii) phân lập sản phẩm kháng thể được biểu hiện. Ngoài ra, phương pháp này có thể có thêm bước (iii) tinh sạch kháng thể được phân lập. Sàng lọc các tế bào B đã biến nạp và các tế bào huyết tương đã nuôi cấy để chúng sản xuất kháng thể có các chức năng và tính đặc hiệu mong muốn.

Có thể thực hiện bước sàng lọc bằng thử nghiệm miễn dịch bất kỳ, ví dụ, ELISA, bằng cách nhuộm mô hoặc tế bào (bao gồm các tế bào đã biến nạp), bằng thử nghiệm trung hòa hoặc bằng một trong số các thử nghiệm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để nhận biết chức năng hoặc tính đặc hiệu mong muốn. Việc lựa chọn sử dụng thử nghiệm nào dựa trên cơ sở nhận biết đơn giản một hoặc nhiều kháng nguyên, hoặc lựa chọn dựa trên cơ sở bổ sung của chức năng mong muốn, ví dụ, để chọn kháng thể trung hòa chứ không phải chỉ là kháng thể gắn kết kháng nguyên, để chọn kháng thể có khả năng làm biến đổi đặc tính của tế bào đích, chẳng hạn như phân tầng tín hiệu của chúng, hình dạng của chúng, tốc độ sinh trưởng của chúng, khả năng tác động đến các tế bào khác của chúng, đáp ứng tới các tác động gây ra bởi các tế bào khác, hoặc bởi các chất phản ứng, hoặc do thay đổi điều kiện của chúng, tính trạng biệt hóa của chúng, v.v..

Sau đó, các dòng tế bào B được biến nạp được tạo ra từ dịch nuôi cấy tế bào B biến nạp dương tính. Tiến hành bước tách dòng để tách các dòng riêng rẽ từ hỗn hợp

các tế bào dương tính sử dụng pha loãng giới hạn, thao tác vi thể, kết tủa tế bào đơn bằng cách phân loại tế bào và phương pháp khác đã biêt trong lĩnh vực kỹ thuật.

Axit nucleic từ các tế bào huyết tương được nuôi cấy được phân lập, tách dòng và biểu hiện trong tế bào HEK293T hoặc tế bào chủ đã biết khác sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các dòng tế bào B bất tử hoặc các tế bào chủ được chuyển nhiễm theo sáng chế được sử dụng theo nhiều cách khác nhau ví dụ, được sử dụng làm nguồn kháng thể đơn dòng, làm nguồn axit nucleic (DNA hoặc mRNA) mã hóa cho kháng thể đơn dòng quan tâm, hoặc để nghiên cứu, v.v..

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất chứa các tế bào B nhớ bất tử hoặc tế bào chủ được chuyển nhiễm sản xuất kháng thể theo sáng chế.

Dòng tế bào B bất tử hoặc các tế bào huyết tương nuôi cấy theo sáng chế cũng được sử dụng như một nguồn axit nucleic để tách dòng các gen kháng thể dùng để biểu hiện tái tổ hợp sau đó. Việc biểu hiện từ các nguồn tái tổ hợp phổ biến hơn so với biểu hiện từ các tế bào B hoặc tế bào lai trong các mục đích dược phẩm, ví dụ, vì các lý do về độ ổn định, khả năng tái sản xuất, dễ nuôi cấy, v.v..

Do đó, sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra tế bào tái tổ hợp, phương pháp này gồm các bước: (i) thu một hoặc nhiều axit nucleic (ví dụ, mARN chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ) từ dòng tế bào B hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy mã hóa cho phân tử kháng thể quan tâm; (ii) chèn axit nucleic vào vectơ biểu hiện và (iii) chuyển nhiễm vectơ vào trong tế bào chủ để cho phép biểu hiện kháng thể quan tâm trong tế bào chủ.

Tương tự, sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tạo ra tế bào tái tổ hợp, phương pháp này gồm các bước: (i) giải trình tự (các) axit nucleic thu được từ dòng tế bào B hoặc tế bào huyết tương được nuôi cấy mã hóa cho phân tử kháng thể quan tâm; và (ii) sử dụng thông tin trình tự từ bước (i) để tạo ra (các) axit nucleic để chèn vào trong tế bào chủ để cho phép biể hiện kháng thể quan tâm trong tế bào chủ. Axit nucliec có thể, nhưng không cần thiết phải bị xử lý giữa các bước (i) và bước (ii) để tạo ra vị trí cắt giới hạn, để thay đổi khả năng mã, và/hoặc để tối ưu hóa trình tự điều hòa phiên mã và/hoặc dịch mã.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tạo ra tế bào chủ được biến nạp. Phương pháp này bao gồm bước biến nạp tế bào chủ với một hoặc nhiều axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm, trong đó axit nucleic là axit nucleic có nguồn gốc từ dòng tế bào B bất tử hoặc tế bào huyết tương được nuôi cấy theo sáng chế. Vì vậy, bước đầu tiên trong quy trình là tạo ra (các) axit nuleic và sau đó sử dụng nó để biến nạp vào tế bào chủ được tiến hành tại các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau ở những nơi khác nhau (ví dụ, ở các nước khác nhau).

Sau đó có thể sử dụng các tế bào tái tổ hợp này cho để biểu hiện và nuôi cấy. Chúng vô cùng có ích trong việc biểu hiện các kháng thể dùng cho sản xuất dược phẩm quy mô lớn. Chúng cũng được sử dụng như một thành phần hoạt hóa trong dược phẩm. Bất kỳ kỹ thuật nuôi cấy nào phù hợp cũng đều được sử dụng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở nuôi cấy tĩnh, nuôi cấy chai quay, nuôi cấy dịch cổ trướng, bể phản ứng sinh học có giá thể là sợi rỗng, thùng lên men nhỏ theo mô-đun, nuôi cấy thùng khuấy, nuôi cấy trên các hạt có kích thước hiển vi (microcarrier), nuôi cấy dịch có giá thể là thể gốm, v.v..

Các phương pháp để thu và giải trình tự các gen globulin miễn dịch từ các tế bào B hoặc từ các tế bào huyết tương là những kiến thức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập (*ví dụ*, xem Chapter 4 of Kuby Immunology, 4th edition, 2000).

Các tế bào chủ được biến nạp có thể là tế bào nhân thực, bao gồm nấm men và tế bào động vật, đặc biệt là các tế bào động vật có vú (ví dụ, tế bào CHO, tế bào NS0, tế bào người chẳng hạn, tế bào PER.C6 hoặc HKB-11, tế bào myeloma), cũng như các tế bào thực vật. Tốt hơn nếu các vật chủ biểu hiện có thể glycosyl hóa kháng thể theo sáng chế, đặc biệt là với các cấu trúc carbohydrat không tự gây miễn dịch ở người. Theo một phương án ưu tiên, tế bào chủ được biến nạp có khả năng sinh trưởng trong môi trường không có huyết thanh. Theo một phương án khác, tế bào chủ được biến nạp có khả năng sinh trưởng trong môi trường không có các sản phẩm có nguồn gốc từ động vật. Cũng có thể nuôi cấy tế bào động vật được biến nạp để tạo ra dòng tế bào.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp để tạo ra một hoặc nhiều phân tử axit nucleic (ví dụ, các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ) mã hóa cho kháng thể quan tâm, bao gồm các bước: (i) tạo ra dòng tế bào B bất tử hoặc nuôi cấy các tế bào huyết tương

theo sáng chế; (ii) thu lấy axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm từ dòng tế bào B bất tử hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp thu trình tự axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm, bao gồm các bước: (i) tạo ra dòng tế bào B bất tử và nuôi cấy tế bào huyết tương theo sáng chế; (ii) giải trình tự axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm từ dòng tế bào B bất tử hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tạo ra (các) phân tử axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm, bao gồm bước thu axit nucleic lấy từ dòng tế bào B bất tử hoặc từ các tế bào huyết tương nuôi cấy theo sáng chế. Vì vậy, bước đầu tiên trong quy trình là thu lấy dòng tế bào B bất tử và tế bào huyết tương nuôi cấy, sau đó tiến hành thu (các) axit nucleic từ dòng tế bào B bất tử và tế bào huyết tương nuôi cấy tại các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau ở những nơi khác nhau (ví dụ, ở các nước khác nhau).

Sáng chế cũng bao gồm phương pháp sản xuất kháng thể (ví dụ, để sử dụng trong dược phẩm) theo sáng chế, phương pháp này bao gồm các bước: (i) thu và/hoặc giải trình tự một hoặc nhiều axit nucleic (ví dụ, các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ) từ dòng tế bào B bất tử và tế bào huyết tương nuôi cấy biểu hiện kháng thể quan tâm; (ii) chèn (các) axit nucleic vào vectơ biểu hiện hoặc sử dụng (các) trình tự axit nucleic để tạo ra vectơ biểu hiện; (iii) biến nạp vào trong tế bào chủ có khả năng biểu hiện kháng thể quan tâm; (iv) nuôi cấy hoặc nuôi cấy cấp hai các tế bào chủ được biến nạp trong các điều kiện sao cho kháng thể quan tâm được biểu hiện; và, tùy ý, (v) tinh sạch kháng thể quan tâm.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước: nuôi cấy hoặc nuôi cấy cấp hai quần thể tế bào chủ được biến nạp trong các điều kiện sao cho kháng thể quan tâm được biểu hiện và, tùy ý, tinh sạch kháng thể qua tâm, trong đó quần thể tế bào chủ đã nêu được tạo ra bằng cách (i) tạo ra (các) axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm được lựa chọn là các kháng thể được sản xuất bởi dòng tế bào B bất tử và tế bào huyết tương nuôi cấy sản xuất như đã mô tả ở trên, (ii) chèn (các) axit nucleic vào trong vectơ biểu hiện, (iii) biến nạp vectơ vào trong tế bào chủ có khả năng biểu hiện kháng thể quan tâm, và (iv) nuôi cấy hoặc nuôi cấy cấp hai các tế bào chủ được biến nạp có chứa axit nucleic được chèn để sản xuất

kháng thể quan tâm. Do đó, bước đầu tiên trong quy trình là tạo ra tế bào chủ tái tổ hợp và sau đó có thể tiến hành nuôi cấy chúng để biểu hiện kháng thể tại các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau ở những nơi khác nhau (ví dụ, ở các nước khác nhau).

Các quyết định kháng nguyên (epitop)

Như được trình bày ở trên, các kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng để lập bản đồ quyết định kháng nguyên (epitop) mà chúng gắn vào. Sáng chế đề cập đến các kháng thể gắn với các epotop đã biết và các kháng thể gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) mới trên G protein (glycoprotein G) của RABV. Các quyết định kháng nguyên (epitop) trên G protein (glycoprotein G) của RABV và các ví dụ về kháng thể gắn với mỗi quyết định kháng nguyên (epitop), đã được mô tả chi tiết trong ví dụ 3 và 5, và có liên quan đặc biệt tới độ bảo thủ của các vị trí kháng nguyên I và III trên G protein của RABV trong ví dụ 6.

Nhìn chung, các quyết định kháng nguyên (epitop) mà kháng thể theo sáng chế gắn vào có thể có cấu hình bậc 1 (liên tục) hoặc có cấu hình bậc 3 (không liên tục). Theo một phương án ưu tiên hơn, các kháng thể và các mảnh kháng thể gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) có cấu hình bậc 3. Tốt hơn nếu quyết định kháng nguyên (epitop) có cấu hình bậc 3 chỉ xuất hiện ở các điều kiện không khử.

Cụ thể là, trước đó hai kháng thể tham chiếu là CR57 và CR4098 đã lần lượt nhận biết các vị trí kháng nguyên I và III trên G protein của RABV (Bakker, A. B. H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005). Các kháng thể được lấy làm ví dụ theo sáng chế được chia thành 6 nhóm. RVA125, RVC3, RVC20 và RVD74 là nhóm gắn với vị trí kháng nguyên I. Lưu ý rằng, khả năng gắn kết của kháng thể vị trí kháng nguyên I với G protein tăng lên nhờ phân nhóm các kháng thể không gắn với vị trí kháng nguyên I. RVA122, RVA144, RVB492, RVC4, RVC69, RVC38 và RVC58 là nhóm gắn với vị trí kháng nguyên III, trong đó, quyết định kháng nguyên (epitop) RVC58 có thể chỉ chồng một phần với vị trí kháng nguyên III. Nhóm thứ ba gồm các kháng thể RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 gắn với vị trí kháng nguyên III.2, gần giống với vị trí kháng nguyên III trên G protein. Ba vị trí kháng nguyên bổ sung được xác định có tên là A, B và C. Vị trí A được xác định bởi duy

nhất kháng thể RVB686, vì vậy, sự gắn kết của RVB686 có thể tạo ra tác động biến cấu trên G protein, làm thay đổi khả năng gắn kết của hầu hết các kháng thể khác. Vị trí B được xác định bởi kháng thể RVC44. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể RVB143 và RVC68, các kháng thể này cũng nhận biết một quyết định kháng nguyên (epitop) duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể khác. Lưu ý rằng, RVC44, RVB143 và RVC68 chỉ là các kháng thể trong tập hợp kháng thể có khả năng gắn với G protein trong điều kiện khử, vì vậy đưa ra giả thuyết rằng chúng nhận biết quyết định kháng nguyên (epitop) bậc 1 trên G protein của RABV.

Chuỗi polypeptit gắn với các kháng thể theo sáng chế có một số tác dụng. Các biến thể chuỗi polypeptit hoặc các chuỗi polypeptit của chúng ở dạng tinh sạch hoặc tổng hợp có thể sử dụng để tăng đáp ứng miễn dịch (nghĩa là, như một vacxin hoặc dùng để sản xuất kháng thể sử dụng vào những việc khác) hoặc dùng để sàng lọc huyết thanh cho các kháng thể phản ứng miễn dịch với quyết định kháng nguyên (epitop) hoặc mimotope của nó. Theo một phương án, có thể sử dụng các biến thể polypeptit hoặc các polypeptit đã nêu hoặc kháng nguyên có chứa các biến thể polypeptit hoặc các polypeptit đã nêu như một vacxin để làm tăng đáp ứng miễn dịch, vacxin này có chứa các kháng thể có chất lượng giống với các kháng thể đã mô tả trong sáng chế.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, dùng để kiểm tra chất lượng của vacxin ngừa RABV và lyssavirut không phải RABV bằng cách kiểm tra xem kháng nguyên của vacxin đã nếu có chứa quyết định kháng nguyên (epitop) đặc hiệu ở đúng dạng cấu hình bậc 3.

Các kháng thể và các mảnh kháng thể theo sáng chế cũng được sử dụng trong kiểm tra chất lượng của vacxin. Cụ thể là, các kháng thể có thể được sử dụng để kiểm tra xem kháng nguyên của vacxin đã nêu có chứa quyết định kháng nguyên (epitop) đặc hiệu ở đúng dạng cấu hình bậc ba chiều. Việc sử dụng kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để kiểm tra chất lượng của vacxin ngừa RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV bằng cách, ví dụ, kiểm tra rằng kháng nguyên trong vacxin đã nêu có chứa quyết định kháng nguyên (epitop) đặc hiệu ở đúng dạng cấu hình bậc ba cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các chuỗi polyepeptit gắn với kháng thể theo sáng chế cũng được sử dụng

trong sàng lọc các phối tử gắn với chuỗi polypeptit đã nêu. Các phối tử như vậy, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các kháng thể; bao gồm các kháng thể của lạc đà, các mập và các loài khác; các mảnh kháng thể, mảnh peptit, mảnh phago trình diễn sản phẩm công nghệ, aptamer (phân tử nhỏ có khả năng liên kết với một phân tử khác), adnectin hoặc các mảnh protein tế bào hoặc virut khác, có khả năng cản trở quyết định kháng nguyên (epitop) và vì vậy ngăn ngừa lây nhiễm. Các phối tử như vậy cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Dược phẩm

Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa một hoặc nhiều: kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế, axit nuleic mã hóa cho kháng thể và các mảnh kháng thể đã nêu; vectơ mã hóa cho các axit nucleic; tế bào biểu hiện kháng thể hoặc có chứa vectơ; hoặc chuỗi polypeptit sinh miễn dịch được nhận biết bởi các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Dược phẩm cũng có thể chứa một chất mang dược dụng hoặc tá dược. Tốt hơn nếu, dược phẩm gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, và tá dược dụng, chất pha loãng hoặc chất mang.

Mặc dù chất mang hoặc tá dược rất dễ cung cấp, nhưng bản thân nó không nên tạo ra sản phẩm của kháng thể gây hại tới cá thể nhận dược phẩm. Hoặc không nên là độc tố. Các chất mang thích hợp có thể là các đại phân tử được chuyển hóa chậm, có kích thước lớn, chẳng hạn như protein, chuỗi polypeptit, liposom, polysaccarit, axit polylactic, axit polyglycolic, axit amin polymeric, axit amincopolyme và các hạt virut bất hoạt.

Các muối dược dụng có thể được sử dụng, ví dụ, các muối axit khoáng, chẳng hạn như hydroclorit, hydrobromit, phosphat và sulphat, hoặc muối của axit hữu cơ, chẳng hạn axetat, propionat, malonat và benzoat.

Các chất mang dược dụng trong hợp chất trị liệu có thể chứa thêm các chất lỏng chẳng hạn như nước, nước muối, glyxerol và etanol. Ngoài ra, các chất bổ trợ, chẳng hạn tác nhân làm ướt hoặc tác nhân nhũ hóa hoặc đệm pH cũng có có mặt trong hợp chất đã nêu. Các chất mang đã nêu có thể kết hợp vào dược phẩm dưới dạng như viên

nén, viên tròn, viên bao đường, viên nang, chất lỏng, gel, sirô, viên dẻo hoặc huyền phù để cho đối tượng sử dụng uống.

Dược phẩm theo sáng chế được bào chế dưới nhiều dạng. Ví dụ, dược phẩm có thể được bào chế thành dạng có thể tiêm, hoặc dạng dung dịch lỏng hoặc huyền phù. Các dạng rắn phù hợp với dung dịch, hoặc huyền phù, chất lỏng dẫn thuốc trước khi tiêm có thể được bào chế (ví dụ, chế phẩm làm khô lạnh, như Synagis™ và Herceptin™, để hoàn nguyên với nước cất có chứa chất bảo quản). Dược phẩm để dùng tại chỗ, ví dụ, thuốc mỡ, kem hoặc bột cũng được bào chế. Có thể bào chế dược phẩm dùng theo đường miệng, ví dụ, viên nén hoặc viên nang, thuốc dạng xịt hoặc như một siro (hương vị tùy ý). Dược phẩm cũng có thể được bào chế để cung cấp theo đường hô hấp ví dụ, dược phẩm để xông, sử dụng bột mịn hoặc bụi nước. Dược phẩm cũng được bào chế như một thuốc đạn hoặc thuốc đặt vào âm đạo. Dược phẩm cũng được bào chế để dùng theo đường mũi, tai hoặc mắt, ví dụ, thuốc nhỏ. Dược phẩm cũng có thể ở dạng bộ dược phẩm, được thiết kế sao cho một dược phẩm kết hợp được hoàn nguyên trước khi cung cấp cho đối tượng cần điều trị. Ví dụ, kháng thể làm đông khô lạnh được cung cấp thành một bộ với nước cất hoặc một đệm vô trùng.

Thành phần hoạt hóa trong dược phẩm có thể là một phân tử kháng thể, hoặc mảnh kháng thể hoặc các biến thể và các dẫn xuất của nó. Do đó, nó dễ phân hủy trong đường tiêu hóa. Vì vậy, nếu dược phẩm được cung cấp hằng ngày theo đường tiêu hóa, dược phẩm cần phải chứa các tác nhân để bảo vệ kháng thể khỏi sự thủy phân tuy nhiên tác nhân này phải được tách ra khỏi kháng thể khi nó đã được hấp thụ từ ống tiêu hóa.

Các chất mang dược dụng được thảo luận chi tiết trong Gennaro (2000) Remington: The Science và Practice of Pharmacy, 20th edition, ISBN: 0683306472.

Dược phẩm theo sáng chế thường có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, theo một vài phương án, độ pH có thể nằm trong khoảng từ 6 đến 8 và theo một vài phương án khác, pH có giá trị khoảng 7. Có thể duy trì độ pH bằng cách sử dụng một đệm. Dược phẩm có thể vô trùng và/hoặc không chứa tác nhân gây sốt. Dược phẩm có thể đẳng trương đối với con người. Theo một phương án, dược phẩm theo sáng chế được đựng trong các hộp đóng kín.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là các dược phẩm được cung cấp dưới

một vài dạng; các dạng dược phẩm bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các dạng phù hợp để cung cấp ngoài đường tiêu hóa, ví du, để tiêm hoặc truyền, ví dụ, để tiêm nhanh một liều thuốc hoặc truyền liên tục. Trường hợp sản phẩm dùng để tiêm hoặc truyền, thuốc có thể ở dạng huyền phù, dung dịch hoặc nhũ tương trong chất dẫn thuốc trong nước hoặc dầu và có thể chứa các tác nhân, chẳng hạn như, chất tạo huyền phù, chất bảo quản, chất ổn định và/hoặc chất phân tán. Ngoài ra, phân tử kháng thể có thể ở dạng khô, để tại tạo trước khi sử dụng với chất lỏng vô trùng thích hợp. Chất dẫn thuốc thường được hiểu là chất phù hợp với việc bảo quản, vận chuyển và/hoặc cung cấp một hợp chất, chẳng hạn như dược chất hoạt hóa. Ví dụ, chất dẫn thuốc có thể là chất lỏng sinh lý dụng, thích hợp để bảo quản, vận chuyển và/hoặc cung cấp một dược chất hoạt hóa, cụ thể là kháng thể theo sáng chế. Sau khi được bào chế, dược phẩm theo sáng chế được cung cấp trực tiếp cho đối tượng cần điều trị. Theo một phương án, dược phẩm được biến đổi để cung cấp cho động vật có vú, ví dụ con người.

Dược phẩm theo sáng chế được dùng theo một số đường dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường miệng, tiêm tĩnh mạch, tiêm cơ, động mạch, trong tủy sống, trong màng bụng, trong tâm thất, áp da, qua da, dùng tại chỗ, dưới da, trong mũi, trong ruột, dưới lưỡi, trong âm đạo hoặc trực tràng. Hộp cứu thương cũng được sử dụng để cung cấp dược phẩm theo sáng chế. Thông thường, dược phẩm được bào chế dưới dạng tiêm, hoặc dạng dung dịch hoặc huyền phù. Dạng rắn thích hợp đối với dung dịch hoặc huyền phù trong chất lỏng dẫn thuốc trước khi tiêm cũng được bào chế.

Thông thường, việc vận chuyển dược phẩm trực tiếp vào trong cơ thể được thực hiện bằng cách tiêm dưới da, trong màng bụng, tiêm tĩnh mạch hoặc trong cơ, hoặc đưa trực tiếp vào kẽ của mô, do đó tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm trong cơ được ưu tiên hơn và tiêm trong cơ được ưu tiên nhất. Dược phẩm cũng có thể được cung cấp vào thẳng vết thương. Đặc biệt ưu tiên nếu dược phẩm theo sáng chế được cung cấp giống như các globulin miễn dịch bệnh dại (rabies immunoglobulins - RIGs) đã biết trong phòng ngừa sau phơi nhiễm. Ví dụ, tổ chức y tế thế giới WHO khuyến cáo sử dụng tất cả các RIG, hoặc phẫu thuật nhiều nhất có thể để tránh hội chứng chèn ép khoang có thể xảy ra, bên trong hoặc xung quanh vị trí hoặc các vị trí vết thương (ví dụ, vị trí vết cắn). Globulin miễn dịch còn lại, nếu có, nên được tiêm trong cơ tại vị trí cách xa vị trí tiêm vacxin (tham khảo trên trang web http://www.who.int/ rabies

/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Theo đó, phương pháp cung cấp này cũng được đặc biệt ưu tiên đối với kháng thể và dược phẩm theo sáng chế, ít nhất là trong phòng ngừa sau phơi nhiễm và cũng có thể là trong điều trị hoặc trong các ứng dụng khác.

Liều lượng điều trị có thể là phác đồ điều trị liều đơn hoặc liều đa. Dược phẩm chứa kháng thể đã biết cung cấp hướng dẫn liên quan đến tần xuất dùng thuốc, ví dụ, liệu một dược phẩm nên được dùng hằng ngày, hằng tuần, hằng tháng, v.v.. Tần xuất và liều lượng cũng có thể phụ thuộc vào mức độ nghiêm trọng của triệu chứng. Cụ thể là, phác đồ điều trị đối với globulin miễn dịch dại cung cấp hướng dẫn liên quan đến tần xuất dùng thuốc. Đối với các RIG, nó được khuyên dùng sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm để cung cấp RIG cho tạo miễn dịch thụ động chỉ một lần, tốt nhất là tại thời điểm hoặc sớm nhất có thể sau khi tiêm vacxin sau phơi nhiễm lần đầu tiên. Theo đó, phác đồ điều trị này cũng được đặc biệt ưu tiên đối với kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế, ít nhất là trong phòng ngừa sau phơi nhiễm. Nhìn chung, tức là với mọi ứng dụng, kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế cung cấp theo phác đồ liều đơn được ưu tiên hơn, tức là chỉ một liều duy nhất. Theo đó, dược phẩm theo sáng chế cung cấp như là sản phẩm liều đơn được ưu tiên hơn. Tuy nhiên, do liều lượng phụ thuộc vào trọng lượng cơ thể, trong những trường hợp như vậy, liều lượng ứng với trọng lượng cơ thể tối đa được xem như là "liều đơn".

` Cụ thể, tốt hơn nếu, lượng kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong dược phẩm theo sáng chế, không vượt quá 100 mg, tốt hơn nếu không vượt quá 50 mg, tốt hơn nữa nếu không vượt quá 20 mg, tốt nhất là không quá 10 mg, và đặc biệt ưu tiên nếu không vượt quá 5 mg. Lượng kháng thể này đề cập đến một liều đơn như đã mô tả ở trên. Do đó, liều lượng kháng thể theo sáng chế, có liệu quả trong, ví dụ, phòng ngừa sau phơi nhiễm là rất thấp, trong khi lượng HRIG khuyên dùng là 20 IU/kg thể trọng, thậm chí đối với ERIG và F(ab')2 là 40 IU/kg thể trọng. Lượng kháng thể theo sáng chế thấp như vậy có thể được sản xuất và tạo thành ở dạng ổn định (nghĩa là, ở dạng đông khô lạnh, là dạng mà các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng các kháng thể đơn dòng được bảo quản bằng đông khô lạnh không bị phân hủy trong 33 tháng tại nhiệt độ 40°C và trong 5 tháng tại nhiệt độ 50°C) và cũng có giá cả hợp lý ở những nước đang phát triển.

Tuy nhien, kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế cũng được cung cấp nhiều hơn một liều, ví dụ, trong các trường hợp nặng, ví dụ như trong liệu trình điều trị.

Tốt hơn nếu, dược phẩm theo sáng chế được cung cấp cho đối tượng sau khi đã lây nhiễm RABV và các lyssavirut không phải RABV.

Dược phẩm sẽ bao gồm một lượng hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế và/hoặc một chuỗi polypeptit có chứa một quyết định kháng nguyên (epitop) gắn với kháng thể theo sáng chế, nghĩa là, lượng đủ để điều trị, cải thiện, làm giảm hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh mong muốn hoặc có hiệu quả điều trị có thể nhìn thấy được. Hiệu quả điều trị cũng bao gồm việc làm thuyên giảm hoặc làm suy yếu tác nhân gây bệnh hoặc triệu chứng vật lý. Lượng hiệu quả điều trị chính xác đối với đối tượng cụ thể sẽ phụ thuộc vào kích thước, khối lượng, và sức khỏe của chúng, tính chất và mức độ của tình trạng bệnh, và liệu pháp hoặc liệu pháp kết hợp được chọn để điều trị. Lượng hiệu quả điều trị trong mỗi trường hợp cụ thể được xác định bằng thử nghiệm hằng ngày và nằm trong sự đánh giá của bác sỹ lâm sàng. Đối với mục đích của sáng chế, lượng hiệu quả điều trị thường nằm trong khoảng từ 0,005 đến 100 mg/kg, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,0075 đến 75 mg/kg, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,01 đến 60 mg/kg, thậm chí tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,03 đến 50 mg/kg kháng thể theo sáng chế được cung cấp cho từng các thể.

Tốt hơn nếu, dược phẩm theo sáng chế có chứa ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế, trong đó hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng gắn đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có chứa kháng thể thứ nhất hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế và một kháng thể thứ hai hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó gắn đặc hiệu với quyết định kháng nguyên (epitop) khác trên glycoprotein G của RABV so với kháng thể thứ hai hoặc mảnh liên kết kháng nguyên thứ hai của nó

Nghĩa là, hai kháng thể theo sáng chế gắn đặc hiệu với G protein của RABV, nhưng lại gắn vào các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên G protein của RABV. Ví dụ, một kháng thể có thể gắn đặc hiệu với vị trí kháng nguyên I trên G protein của RABV và một kháng thể khác gắn đặc hiệu với một quyết định kháng

nguyên (epitop) trên glycoprotein G của RABV, cái chồng ít nhất một phần lên vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Các vị trí kháng nguyên của các kháng thể được lấy làm ví dụ được chỉ ra trong ví dụ 3. Hơn nữa, liệu hai kháng thể gắn vào cùng epiop hay gắn vào các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên G protein của RABV được xác định một cách dễ dàng bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ bằng cách sử dụng thử nghiệm cạnh tranh bất kỳ, theo đó, một ví dụ nghiên cứu về sự cạnh tranh được trình bày trong ví dụ 3.

Tốt hơn nếu, một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể có trong dược phẩm theo sáng chế gắn (đặc hiệu) với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể có trong dược phẩm theo sáng chế gắn (đặc hiệu) với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV.

Tốt hơn nữa nếu, ít nhất một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng có trong dược phẩm theo sáng chế đã nêu chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167.

Tốt hơn nếu, trong dược phẩm theo sáng chế, một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng chứa (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với các trình tự nêu trong ID NOs: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 hoặc (ii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong ID NOs: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Tốt hơn nữa nếu, một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 179.

Dược phẩm theo sáng chế được ưu tiên hơn nữa nếu bao gồm ít nhất hai kháng thể theo sáng chế như đã mô tả ở trên, trong đó một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc

mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 và trong đó một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nữa nếu, một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong ID NOs: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Tốt hơn nữa nếu, một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên nó theo kháng thể gRVC20 và trong đó một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể theo kháng thể gRVC58.

Một ví dụ cụ thể về hai kháng thể theo sáng chế, là hai kháng thể gắn đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV, là kháng thể RVC20 và RVC58.

Ngoài ra, dược phẩm cũng có thể chứa nhiều hơn hai, ví dụ 3, 4, 5, 6, v.v., kháng thể theo sáng chế, theo đó, ít nhất là hai, tốt hơn nếu nhiều hơn hai, tốt hơn nữa nếu tất cả các kháng thể trong dược phẩm, đều gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên G protein của RABV.

Tốt hơn nếu, (ít nhất) hai kháng thể theo sáng chế có trong thành phần dược phẩm ở các lượng đẳng mol, tốt hơn nữa nếu là một hỗn hợp đẳng mol.

Việc kết hợp hai kháng thể theo sáng chế, là các kháng thể gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên G protein của RABV đại diện cho việc điều trị với một độ rộng phản ứng chưa từng có và làm giảm nguy cơ thoát của đột biến chọn loc. Cụ thể là, việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể đơn dòng theo sáng

chế, nhờ đó các kháng thể gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau hoặc các vị trí khác nhau trên G protein của RABV làm tăng hiệu quả bảo vệ và ngăn sự thoát của các biến thể kháng của virut.

Tốt hơn nếu, dược phẩm có thể chứa hai hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5 v.v.) kháng thể theo sáng chế để tạo ra hiệu quả điều trị hiệp đồng hoặc bổ sung. Thuật ngữ "hiệp đồng" được sử dụng để mô tả hiệu quả kết hợp hai hoặc nhiều tác nhân hoạt hóa, lớn hơn so với tổng hiệu quả của tứng tác nhân riêng rẽ. Do đó, khi hiệu quả kết hợp của hai hoặc nhiều tác nhân dẫn đến "hiệp đồng ức chế" của một hoạt động hoặc quá trình, được dự định là sẽ ức chế hoạt động hoặc quá trình lớn hơn so với tổng hiệu quả ức chế của tứng tác nhân riêng rẽ. Thuật ngữ "hiệu quả hiệp đồng điều trị" đề cập tới hiệu quả điều trị quan sát được khi kết hợp hai hoặc nhiều liệu pháp điều trị trong đó hiệu quả điều trị (được đo bằng số lượng tham số bất kỳ) lớn hơn só với tổng của các hiệu quả trị liệu riêng rẽ quan sát được ứng với các liệu pháp trị liệu riêng rẽ.

Theo một phương án khác, dược phẩm có thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, v.v.) kháng thể theo sáng chế và một hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, v.v.) kháng thể bổ sung kháng RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Ngoài ra, việc cung cấp kháng thể theo sáng chế cùng với các kháng thể đặc hiệu đối với tác nhân gây bệnh khác cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Các kháng thể theo sáng chế có thể được cung cấp hoặc cùng lúc/đồng thời hoặc tại các thời điểm khác nhau từ các kháng thể đặc hiệu với tác nhân gây bệnh khác so với RABV và lyssavirut không phải RABV

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm có chứa hai hoặc nhiều kháng thể, trong đó kháng thể thứ nhất là kháng thể theo sáng chế đã được mô tả ở đây và kháng thể thứ hai là kháng thể đặc hiệu đối với một tác nhân gây bệnh khác, là tác nhân có thể đồng lây nhiễm vào đối tượng mà dược phẩm theo sáng chế cung cấp để điều trị lây nhiễm.

Theo một phương án được đặc biệt ưu tiên, dược phẩm theo sáng chế được cung cấp kết hợp với vacxin bệnh dại (tạo miễn dịch chủ động), đặc biệt là trong phòng ngừa sau phơi nghiễm. Các vacxin bệnh dại có mặt trên thị trường hiện nay bao gồm các vacxin sản xuất từ mô thần kinh được sử dụng rộng rãi nhưng có nguy cơ bị hỏng cao, hoặc vacxin được sản xuất từ nuôi cấy tế bào và trứng phôi (CCEEVs) an toàn hơn nhưng có giá thành cao hơn. Ở Đức, ví dụ, chỉ có hai vacxin ngừa bệnh dại

được bán trên thị trường là Rabipur® và "Tollwut-Impfstoff (tế bào lưỡng bội người - human diploid cell [HDC]) inaktiviert". Các vacxin ngày chứa virut dại đã bất hoạt. Cả hai loại vacxin đều được khuyến cáo sử dụng trước và sau phơi nhiễm. Một ví dụ khác về vacxin bệnh dại là Imovax (Sanofi-Pasteur), là một vacxin được sản xuất từ tế bào lưỡng bội người thương mại. Vacxin bệnh dại thường được cung cấp theo hướng dẫn của nhà sản xuất, theo đó, một quy trình phòng ngừa sau phơi nhiễm bao gồm cung cấp vacxin vào các ngày 0, 3, 7, 14 và 28 sau khi lây nhiễm. Tốt hơn nếu, dược phẩm theo sáng chế (tạo miễn dịch thụ động) chỉ được cung cấp một lần duy nhất, tốt hơn nếu dược phẩm được cung cấp cùng một lúc với vacxin hoặc sớm nhất có thể sau khi tiêm vacxin.

Các ví dụ về kháng thể theo sáng chế đặc hiệu với, và trung hòa RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở kháng thể RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111.

Việc kết hợp, cụ thể là kết hợp đẳng mol, các kháng thể gRVC20 và gRVC58, tốt hơn là các kháng thể RVC20 và RVC58 được ưu tiên hơn. RVC20 gắn vào vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV, và kháng thể RVC58 gắn với một quyết định kháng nguyên (epitop) trên glycoprotein G của RABV, cái chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Do đó, dược phẩm theo sáng chế chứa các kháng thể RVC58 và RVC20 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, tốt hơn nếu chứa các lượng đẳng mol, và một chất mang dược dụng được ưu tiên hơn.

Ngoài ra, dược phẩm chứa kháng thể gRVA122 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVA144 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVB185 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVB492 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC3 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC20 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và

một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC21 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC38 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC44 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC58 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC68 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC111 hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên.

Ngoài ra, dược phẩm chứa kháng thể RVA122 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVA144 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVB185 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVB492 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC20 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC21 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC38 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC44 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC58 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể RVC68 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa biến thể 3 của kháng thể RVC111 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và một chất mang dược dụng cũng được ưu tiên.

Các kháng thể cũng được cung cấp cho những đối tượng trước đây không có phản ứng, nghĩa là, từng cho thấy khúc xạ với điều trị lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV. Trị liệu như vậy bao gồm điều trị trước với tác nhân

kháng virut. Điều này có thể do, ví dụ, lây nhiễm với chủng kháng kháng virut của RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Theo một phương án, kháng thể trong dược phẩm theo sáng chế có thể chiếm trọng lượng lên tới ít nhất 50% (ví dụ, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% hoặc cao hơn) trọng lượng của protein tổng số trong dược phẩm. Trong dược phẩm đã nêu, kháng thể ở dạng đã tinh sạch.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế dược phẩm, phương pháp này bao gồm các bước: (i) sản xuất kháng thể theo sáng chế; và (ii) trộn kháng thể được tinh sạch với một hoặc nhiều chất mang dược dụng.

Theo một phương án khác, phương pháp bào chế dược phẩm bao gồm các bước: trộn kháng thể với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, trong đó kháng thể là kháng thể đơn dòng thu được từ tế bào B được biến nạp hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy theo sáng chế. Do đó, bước đầu tiên của quy trình bào chế là tạo ra kháng thể đơn dòng và sau đó tiến hành điều chế vào các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau tại các nơi khác nhau (ví dụ, tại các nước khác nhau).

Như một giải pháp thay thế cho việc vận chuyển kháng thể hoặc các tế bào B dùng cho mục đích điều trị, có thể vận chuyển axit nucleic (điển hình là ADN) mã hóa cho kháng thể đơn dòng cần quan tâm (hoặc các mảnh hoạt hóa của nó) có nguồn gốc từ tế bào B hoặc tế bào huyết tương được nuôi cấy cho đối tượng, sao cho axit nucleic được biểu hiện *in situ* trong đối tượng để thu được hiệu quả điều trị mong muốn. Liệu pháp gen và vectơ vận chuyển axit nucleic thích hợp là các kiến thức đã biết.

Chế phẩm theo sáng chế có thể là chế phẩm gây miễn dịch, và trong một vài phương án có thể là chế phẩm vacxin chứa kháng nguyên có quyết định kháng nguyên (epitop) được nhận biết bởi một kháng thể theo sáng chế hoặc một mảnh liên kết kháng nguyên của nó, đặc biệt là dược phẩm trong sáng chế, có chứa một chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế. Chế phẩm "vacxin" đã nêu theo sáng chế có thể là vacxin phòng bệnh (nghĩa là, ngăn ngừa lây nhiễm) hoặc có thể là vacxin chữa bệnh (nghĩa là điệu trị hoặc cải thiện tình trạng lây nhiễm). Chế phẩm vacxin đã nêu theo sáng chế có thể tạo ra cả đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào cũng như đáp ứng miễn dịch thể dịch để có thể đáp ứng một cách hiệu quả với lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV. Đáp ứng miễn dịch này có thể tạo ra các

kháng thể bền lâu (ví dụ, trung hòa) và một đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có thể nhanh chóng đáp ứng khi phơi nhiễm với RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Các chế phẩm có thể bao gồm thuốc kháng sinh, đặc biệt nếu được đóng gói dạng liều đa. Chúng có thể chứa các chất tẩy, ví dụ Tween (polysordơi), chẳng hạn như Tween 80. Các chất tẩy thường có nồng độ rất thấp, ví dụ, nhỏ hơn 0,01%. Các chế phẩm cũng có thể chứa muối natri (ví dụ, natri clorit) để làm tăng hoạt tính. Nồng độ của NaCl thường là 10±2mg/ml.

Ngoài ra, các chế phẩm có thể chứa đường alcohol (ví dụ, mannitol) hoặc disaccharit (ví dụ, sucrozơ hoặc trehalozơ) ví dụ, với lượng khoảng 15-30 mg/ml (ví dụ, 25 mg/ml), đặc biệt nếu chúng được làm khô bằng đông lạnh hoặc nếu chúng có chứa các vật liệu được hoàn nguyên từ vật liệu đông khô bằng đông lạnh. Độ pH của một chế phẩm được làm khô bằng đông lạnh được điều chỉnh sao cho nằm trong khoảng từ 5 đến 8, hoặc nằm trong khoảng từ 5,5 đến 7, hoặc khoảng 6,1 trước khi làm khô bằng đông lạnh.

Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa một hoặc nhiều tác nhân điều hòa miễn dịch. Theo một phương án, một hoặc nhiều tác nhân điều hòa miễn dịch là một chất bổ trợ.

Bộ hợp phần

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến bộ hợp phần gồm ít nhất một kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế như đã mô tả ở đây, ít nhất một axit nucleic theo sáng chế như đã mô tả ở đây, ít nhất một vectơ theo sáng chế như đã mô tả ở đây, ít nhất một tế bào theo sáng chế như đã mô tả ở đây, ít nhất một chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế như đã mô tả ở đây, và/hoặc ít nhất một dược phẩm theo sáng chế như đã mô tả ở đây.

Tốt hơn nếu, bộ hợp phần đã nêu gồm ít nhất hai kháng thể, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế như đã mô tả ở đây, trong đó, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng gắn đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Bộ hợp phần đã nêu đặc biệt hữu ích trong việc kết hợp hai kháng thể theo sáng chế đã được mô tả ở đây. Ít

nhất hai kháng thể có thể có mặt trong bộ hợp phần như là các thành phần riêng rẽ hoặc kết hợp, ví dụ, ở dạng hỗn hợp, ví dụ khi cả hai kháng thể cùng nằm trong một dược phẩm. Tốt hơn nếu ít nhất hai kháng thể là các thực thể riêng biệt trong bộ hợp phần, người sử dụng có trộn chúng lại với nhau nếu cần, Tốt hơn nữa nếu, ít nhất hai kháng thể khác nhau được kết hợp lại, ví dụ, như một hỗn hợp, ví dụ, khi cả hai kháng thể đều nằm trong cùng một dược phẩm.

Tốt hơn nếu, trong bộ hợp phần đã nêu, một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV.

Cũng được ưu tiên hơn nếu bộ hợp phần đã nêu chứa ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nếu, bộ hợp phần đã nêu chứa ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 hoặc (ii) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Thậm chí tốt hơn nữa nếu, bộ hợp phần đã nêu chứa ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 179.

Tốt hơn nếu, một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương

đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nếu, bộ hợp phần đã nêu có một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% lần lượt với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99, và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Thậm chí tốt hơn nữa nếu, bộ hợp phần đã nêu có ít nhất một kháng thể trong số hai kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo gRVC20 và trong đó kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể theo gRVC58.

Dược phẩm điều trị và cách sử dụng dược phẩm

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng một kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo sáng chế sử dụng trong (i) phòng ngừa, cụ thể là phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV; trong (ii) tiêm vacxin ngừa lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV; hoặc trong (iii) chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV.

Tốt hơn nếu, các kháng thể và các mảnh kháng thể theo sáng chế hoặc các dẫn xuất và các biến thể của chúng cũng được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm và trong điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV, tức là, lây nhiễm RABV hoặc lyssavirut không phải RABV hoặc đồng lây nhiễm với cả RABV và lyssavirut không phải RABV; hoặc sử dụng trong chẩn đoán

lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế có thể được sử dụng trong phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm do RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV.

Việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế, ví dụ, việc kết hợp của 2, 3, 4, 5, 6, 7, v.v. kháng thể theo sáng chế, để sử dụng trong (i) phòng ngừa, cụ thể là phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV; và trong (ii) tiêm vacxin ngừa lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Việc kết hợp các kháng thể đã nêu được lấy làm ví dụ trong liệu pháp kết hợp sẽ mô tả bên dưới. Ngoài ra, việc cung cấp hai hoặc nhiều kháng thể với các lượng đẳng mol được ưu tiên hơn. Cụ thể là việc kết hợp hai kháng thể có chứa sáu vùng CDR lần lượt theo hai kháng thể RVC20 và RVC58 được ưu tiên, việc kết hợp hai kháng thể theo gRVC20 và gRVC58 cũng được ưu tiên hơn, và việc kết hợp hai kháng thể RVC20 và RVC58 được ưu tiên nhất.

Ngoài ra, việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể đã nêu được ưu tiên hơn trong đó, ít nhất hai kháng thể, tốt hơn nếu nhiều hơn hai kháng thể, và tốt nhất là tất cả các kháng thể được kết hợp, đều gắn với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên G protein của RABV như đã mô tả ở trên. Ví dụ, kháng thể kết hợp thứ nhất có thể gắn đặc hiệu với vị trí kháng nguyên I trên G protein của RABV và kháng thể thứ hai có thể gắn đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên (epitop) trên glycoprotein G của RABV, cái mà chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Các vị trí kháng nguyên của kháng thể được lấy làm ví dụ trong sáng chế được trình bày sơ qua trong ví dụ 3. Hơn nữa, hai hoặc nhiều kháng thể gắn vào cùng một quyết định kháng nguyên (epitop) hay gắn vào các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV được xác định dễ dàng bằng cách sử dụng các nghiên cứu về sự cạnh tranh, theo đó, ví dụ về nghiên cứu sự cạnh tranh đã được trình bày trong ví dụ 3. Các ví dụ được ưu tiên đặc biệt về việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế là việc kết hợp hai kháng thể theo gRVC20 và gRVC58, được ưu tiên hơn là việc kết hợp hai kháng thể RVC20 và RVC58. Ngoài ra, các ví dụ về việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế bao gồm việc kết hợp hai hoặc nhiều gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, và gRVC111, được ưu tiên hơn nữa là việc

kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111.

Tốt hơn nếu, hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế được cung cấp dưới dạng kết hợp tại các lượng đẳng mol.

Thuật ngữ "kết hợp (hai hoặc nhiều) kháng thể" như được sử dụng ở đây đề cập tổ hợp bất kỳ, ví dụ hai hoặc nhiều kháng thể có thể cùng nằm trong một dược phẩm, hoặc, tốt hơn nếu hai hoặc nhiều kháng thể được cung cấp như một liệu pháp kết hợp, đặc biệt nếu chúng được cung cấp tách biệt lẫn nhau, ví dụ, trong sản xuất kháng thể riêng biệt, ví dụ, trong các dược phẩm riêng biệt. Điều đó có nghĩa là, trong việc kết hợp, tốt hơn nếu ít nhất một kháng thể trong số các kháng thể được kết hợp, tốt hơn nữa nếu 2, 3, 4, 5, hoặc 6 kháng thể trong số các kháng thể được kết hợp, tốt nhất là tất cả các kháng thể được kết hợp được cung cấp một cách riêng rẽ. Trong liệu pháp kết hợp, kháng thể theo sáng chế được cung cấp hoặc cùng lúc/đồng thời hoặc được cung cấp lần lượt, nghĩa là một kháng thể được cung cấp trước sau đó đến kháng thể khác lại được cung cấp.

Theo một phương án, có thể kết hợp một hoặc nhiều (*ví dụ,* 2, 3, v.v.) kháng thể theo sáng chế và kết hợp một hoặc nhiều (*ví dụ,* 2, 3, v.v.) kháng thể bổ trợ kháng RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Ngoài ra, việc cung cấp các kháng thể theo sáng chế cùng với các kháng thể đặc hiệu với các tác nhân gây bệnh khác cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch, hoặc dược phẩm theo sáng chế cũng được đề xuất để sử dụng như thuốc dùng trong (i) phòng ngừa, cụ thể là phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV; (ii) tiêm vacxin ngừa lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV; hoặc trong (iii) chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là một số dạng và đường dùng kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch, hoặc dược phẩm như đã mô tả ở trên, liên quan đến dược phẩm. Điều này cũng áp dụng trong ngữ cảnh sử dụng kháng thể, hoặc mảnh liên kết

kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào, polypeptit sinh miễn dịch như đã mô tả ở đây, đặc biệt là liên quan đến các dạng và đường dùng được ưu tiên.

Các phương pháp chẩn đoán bao gồm cho kháng thể hoặc mảnh kháng thể tiếp xúc với mẫu. Mẫu ở đây có thể là các mẫu mô thu được từ, ví dụ, hốc mũi, khoang mũi tuyến nước bọt, phổi, gan, tuyến tụy, thận, tai, mắt, nhau thai, ống tiêu hóa, tim, buồng trứng, tuyến yên, tuyến thượng thận, tuyến giáp, não và da. Các phương pháp chẩn đoán cũng bao gồm việc phát hiện ra phức hợp kháng nguyên/kháng thể.

Vì vậy, sáng chế đề cập đến (i) một kháng thể, mảnh kháng thể, hoặc các biến thể và các dẫn xuất của nó theo sáng chế, (ii) một dòng tế bào B bất tử theo sáng chế, (iii) một quyết định kháng nguyên (epitop) có khả năng gắn với kháng thể theo sáng chế, hoặc (iv) một phối tử, tốt hơn nếu là kháng thể, có khả năng gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) mà quyết định kháng nguyên (epitop) này lại gắn với kháng thể theo sáng chế để sử dụng liệu pháp điều trị.

Tốt hơn nếu, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, phân tử axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, trong đó, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào hoặc dược phẩm được cung cấp sau tới bẩy ngày, tốt hơn nếu sau năm ngày lây nhiễm.

Thuật ngữ "phòng ngừa sau phơi nhiễm" như được sử dụng ở đây đề cập đến các bước điều trị, được bắt đầu điều trị ngay sau khi phơi nhiễm với virut và trước khi những triệu chứng đầu tiên của bệnh dại được phát hiện. Tuy nhiên, do hiện tại không có liệu pháp điều trị thực sự, nghĩa là sau khi xuất hiện các triệu chứng, đối với bệnh dại, phòng ngừa sau phơi nhiễm cũng có thể áp dụng sau khi xuất hiện những triệu chứng đầu tiên của bệnh, tuy nhiên, thông thường phòng ngừa sau phơi nhiễm được biết đến là hầu như không có hiệu quả tại thời điểm quá muộn.

Thông thường, phòng ngừa sau phơi nhiễm bắt đầu càng sớm càng tốt sau khi phơi nhiễm hoặc nghi ngờ phơi nhiễm với virut, tốt hơn nếu bắt đầu điều trị sau từ một vài giờ cho đến 24 giờ hoặc đến 48 giờ sau phơi nhiễm. Trong giới hạn thời gian này, phòng ngừa sau phơi nhiễm được biết là có hiệu quả nhất.

Tuy nhiên, các kháng thể theo sáng chế cũng có hiệu quả khi cung cấp tại thời điểm muộn, thậm chí có lẽ là sau khi bắt đầu xuất hiện những triệu chứng đầu tiên. Do đó, các kháng thể theo sáng chế kéo dài đáng kể khoảng thời gian để bắt đầu điều trị phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV. Tốt hơn nếu, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào, hoặc dược phẩm theo sáng chế được cung cấp sau ít nhất 7 ngày, tốt hơn nếu sau ít nhất 5 ngày phơi nhiễm.

Cũng được ưu tiên hơn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, phân tử axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, trong đó, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào hoặc dược phẩm được cung cấp kết hợp với một vacxin, tốt hơn nếu vacxin đó là vacxin bệnh dại, một loại thuốc kháng virut, tốt hơn nếu thuốc đó là ribavirin, interferon-alpha và/hoặc ketamin.

Như được mô tả ở trên, các vacxin bệnh dại hiện có trên thị thường bao gồm các vacxin sản xuất từ mô thần kinh được sử dụng rộng rãi nhất nhưng lại có nguy cơ bị hỏng cao, hoặc các vacxin sản xuất từ nuôi cấy tế bào và trứng phôi (cell culture and embryonated egg vaccines - CCEEVs) an toàn hơn nhưng giá thành cao hơn. Ở Đức, ví dụ, chỉ có hai vacxin ngừa bệnh dại được bán trên thị trường là Rabipur® và "Tollwut-Impfstoff (tế bào lưỡng bội người - human diploid cell [HDC]) inaktiviert". Các vacxin này chứa virut dại đã bị bất hoạt. Cả hai loại vacxin đều được khuyên dùng cho trước và sau phơi nhiễm. Một ví dụ khác về vacxin bệnh dại là Imovax (Sanofi-Pasteur), là một vacxin thương mại được sản xuất từ tế bào lưỡng bội người đã bị bất hoạt. Các vacxin bệnh dại thường được cung cấp theo hướng dẫn của nhà sản xuất, theo đó, liệu trình phòng ngừa sau phơi nhiễm bao gồm cung cấp vacxin vào các ngày 0, 3, 7, 14 và 28 sau khi lây nhiễm.

Thuốc kháng virut đề cập đến một loại thuốc được sử dụng để điều trị đặc hiệu lây nhiễm virut. Tương tự như thuốc kháng sinh dùng cho vi khuẩn, thuốc kháng virut nhất định được sử dụng cho các virut nhất định. Không giống như hầu hết các thuốc kháng sinh, các thuốc kháng virut không tiêu diệt tác nhân gây bệnh đích của chúng;

thay vào đó chúng ức chế sự phát triển của tác nhân gây bệnh. Thuốc kháng virut là ribavirin được ưu tiên đặc biệt.

Theo một phương án ưu tiên, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, phân tử axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, trong đó, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào hoặc dược phẩm được cung cấp theo một phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn, tốt hơn nếu được kết hợp với một vacxin, tốt hơn nếu chỉ được dùng trong lần điều trị lần thứ nhất của phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn.

Thuật ngữ " phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn" thường đề cập đến phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm được WHO khuyên dùng (tham khảo trên trang http://www.who.int/rabies/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014), theo đó, các kháng thể theo sáng chế thay thế cho các RIG, tức là, HRIG hoặc ERIG. Cụ thể, tiêm vacxin sau phơi nhiễm được bắt đầu càng sớm càng tốt sau khi phơi nhiễm với vacxin bệnh dại như đã mô tả ở trên, theo như hướng dẫn của nhà sản xuất, thường là tiêm ít nhất hai mũi. Ví dụ, liệu trình chuẩn bao gồm, tiêm vacxin vào các ngày 0, 3, 7, 14, và 28 sau phơi nhiễm. Tiêm cùng lúc với lần tiêm thứ nhất, hoặc tiêm sớm nhất có thể sau đó, và chỉ tiêm liều kháng thể đơn.

Khi được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, tốt hơn nếu kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế được cung cấp với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 100 mg/kg, tốt hơn nữa nếu liều lượng nằm trong khoảng từ 0,0075 đến 50 mg/kg, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10 mg/kg, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1 mg/kg thậm chí tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1 mg/kg. Liều đã nêu được ưu tiên đặc biệt trong phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn như đã mô tả ở trên.

Theo một phương án ưu tiên, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên cuả nó, theo sáng chế, phân tử axit nucleic theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, tế bào theo

sáng chế, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, trong đó, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vectơ, tế bào hoặc dược phẩm được cung cấp sau từ 1 đến 6 ngày, tốt hơn nếu sau từ 2 đến 5 ngày phơi nhiễm.

Theo một phương án được ưu tiên khác, là phương án không đề cập đến phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, không được cung cấp đồng thời và/hoặc cung cấp sau vacxin.

Ngoài việc được cung cấp dưới dạng kết hợp với vacxin, ví dụ, trong phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn, các kháng thể theo sáng chế cũng có hiệu quả ngay cả khi nó không được cung cấp cùng với vacxin, ví dụ như trong điều trị bệnh dại ví dụ, nếu nó được cung cấp sau nhiều hơn một hoặc hai ngày phơi nhiễm.

Ngoài ra, tốt hơn nếu kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, hoặc dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 21 đến 24 sử dụng trong trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, mà kháng thể hoặc hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế được cung cấp với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 mg/kg, tốt hơn nữa nếu liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 75 mg/kg, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 60 mg/kg, thậm chí tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 10 đến 50 mg/kg. Các liều "lớn hơn" được đặc biệt ưu tiên nếu phơi nhiễm nặng và/hoặc nếu việc điều trị được bắt đầu sau hơn một hoặc hai ngày phơi nhiễm.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng bao gồm cung cấp cho đối tượng cần điều trị kháng thể, mảnh kháng thể, hoặc các biến thể và dẫn xuất của chúng theo sáng chế, hoặc một phối tử, tốt hơn nếu là kháng thể, có khả năng gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) mà quyết định kháng nguyên (epitop) này lại gắn với kháng thể theo sáng chế. Theo một phương án, phương pháp làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV ở đối tượng cần điều trị. Theo

một phương án khác, phương pháp giúp ngăn ngừa, làm giảm nguy cơ hoặc làm chậm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV ở đối tượng.

Cụ thể là, sáng chế đề xuất phương pháp giúp ngăn ngừa và/hoặc điều trị lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV ở đối tượng cần điều trị, trong đó phương pháp bao gồm cung cấp cho đối tượng cần điều trị kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như đã mô tả ở đây, phân tử axit nucleic theo sáng chế như đã mô tả ở đây, vectơ theo sáng chế như đã mô tả ở đây, tế bào theo sáng chế như đã mô tả ở đây, chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, và/hoặc dược phẩm theo sáng chế như đã mô tả ở đây. Tốt hơn nếu phương pháp đã nêu bao gồm phòng ngừa sau phơi nhiễm như đã mô tả ở đây. Cũng được ưu tiên hơn nếu phương pháp đã nêu gồm việc tiêm vacxin ngừa lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV ở đối tượng, trong đó phương pháp bao gồm cung cấp cho đối tượng cần điều trị kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như đã mô tả ở đây, phân tử axit nucleic theo sáng chế như đã mô tả ở đây, vectơ theo sáng chế như đã mô tả ở đây, tế bào theo sáng chế như đã mô tả ở đây, polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, và/hoặc dược phẩm theo sáng chế như đã mô tả ở đây.

Tốt hơn nếu, trong các phương pháp theo sáng chế được mô tả ở trên, có ít nhất hai kháng thể, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế như đã mô tả ở đây được cung cấp cho đối tượng, mà các kháng thể, hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng gắn đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên (epitop) khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Tốt hơn nếu, một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể gắn vào vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Tốt hơn nếu, ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nữa nếu, ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết

kháng nguyên của nó chứa (i) các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trongSEQ ID NO: 93-96 và 98-99 hoặc (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Thậm chí tốt hơn nữa nếu, ít nhất một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể vùng CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167. Đặc biệt tốt hơn nếu một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trongSEQ ID NO: 93-96 và 98-99 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu tương đồng ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng (i) một kháng thể, mảnh kháng thể, hoặc các biến thể và các dẫn xuất của nó theo sáng chế, (ii) một dòng tế bào B bất tử theo sáng chế, (iii) một quyết định kháng nguyên (epitop) có khả năng gắn với kháng thể theo sáng chế, hoặc (iv) một phối tử, tốt hơn nếu là kháng thể, có khả năng gắn với quyết định kháng nguyên (epitop) mà quyết định kháng nguyên (epitop) này lại gắn với kháng thể theo sáng chế, hoặc (v) dược phẩm theo sáng chế dùng trong (i) sản xuất thuốc điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV (ii) vacxin, hoặc (iii) chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm theo sáng chế sử dụng như thuốc trong việc ngăn ngừa và điều trị lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV. Sáng chế cũng đề xuất viêc sử dụng kháng thể theo sáng chế và/hoặc protein có chứa quyết định kháng nguyên (epitop) mà kháng thể đã nêu gắn vào trong quy trình sản xuất thuốc để điều trị cho đối tượng và/hoặc chẩn đoán cho đối tượng. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng, bao gồm bước cung cấp cho đối tượng một chế phẩm theo sáng chế. Theo một vài phương án, đối tượng có thể là con người. Một cách để kiểm tra hiệu quả của liệu pháp trị liệu là theo dõi các triệu chứng sau khi cung cấp chế phẩm theo sáng chế. Việc trị liệu có thể là liệu trình liều đơn hoặc liệu trình đa liều.

Theo một phương án, kháng thể, mảnh kháng thể, dòng tế bào B bất tử, quyết định kháng nguyên (epitop) hoặc chế phẩm theo sáng chế được cung cấp cho đối tượng cần điều trị. Đối tượng như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người có nguy cơ cao hoặc dễ bị lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV.

Các kháng thể và các mảnh của nó như được mô tả trong sáng chế cũng có thể được sử dụng trong bộ chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV. Hơn nữa, các quyết định kháng nguyên (epitop) có khả năng gắn với kháng thể theo sáng chế cũng có thể sử dụng trong kit để kiểm tra hiệu quả của liệu trình chủng ngừa bằng cách phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng bảo vệ kháng RABV hoặc các lyssavirut không phải RABV. Các kháng thể, mảnh kháng thể, hoặc các biến thể và dẫn xuất của chúng, như đã mô tả trong sáng chế cũng được sử dụng trong kit để theo dõi việc sản xuất vacxin có đặc tính sinh miễn dịch mong muốn.

Các kháng thể và các mảnh của nó như đã mô tả trong sáng chế cũng được sử dụng để kiểm tra chất lượng vacxin ngừa RABV hoặc ngừa các lyssavirut không phải RABV bằng cách kiểm tra xem kháng nguyên trong vacxin đã nêu có chứa các quyết định kháng nguyên (epitop) đặc hiệu ở đúng cấu hình bậc ba.

Sáng chế cũng đề xuất một quyết định kháng nguyên (epitop) gắn đặc hiệu với kháng thể theo sáng chế hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, sử dụng (i) trong liệu pháp điều trị, (ii) trong sản xuất thuốc để điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không phải RABV, (iii) như một vacxin, hoặc (iv) trong sàng lọc các phối tử có khả năng trung hòa lây nhiễm RABV và/hoặc các lyssavirut không

phải RABV.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm, bao gồm bước trộn kháng thể đơn dòng với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, trong đó kháng thể đơn dòng là kháng thể đơn dòng thu được từ tế bào chủ được biến nạp theo sáng chế. Do đó, bước đầu tiên trong quy trình là sản xuất kháng thể đơn dòng (ví dụ, biểu hiện nó và/hoặc tinh sạch nó) và sau đó trộn nó với (các) chất mang dược dụng có thể thực hiện tại các thời điểm khác nhau bở những người khác nhau ở những địa điểm khác nhau (ví dụ, ở các nước khác nhau)

Bắt đầu với tế bào B được biến nạp hoặc tế bào huyết tương được nuôi cấy theo sáng chế, có thể tiến hành các bước nuôi cấy, nuôi cấy cấp hai, tách dòng, tách dòng cấp hai, giải trình tự, chuẩn bị axit nucleic, v.v. theo thứ tự để làm bất tử kháng thể được biểu hiện bằng tế bào B được biến nạp hoặc tế bào huyết tương được nuôi cấy, cùng với việc tùy ý tối ưu hóa ở mỗi bước. Theo một phương án, các phương pháp ở trên còn bao gồm thêm các kỹ thuật tối ưu hóa (ví dụ, chín ái lực hoặc tối ưu hóa ái lực) đối với các axit nucleic mã hóa cho kháng thể. Sáng chế bao gồm tất cả các tế bào, axit nucleic, vectơ, trình tự, kháng thể, v.v. được sử dụng và được tạo ra trong các bước đã nêu.

Trong tất cả các phương pháp này, axit nucleic được sử dụng trong vật chủ biểu hiện có thể bị xử lý để thêm, bớt, hoặc thay thế các trình tự axit nucleic nhất định. Các đột biến từ những xử lý trên bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, đột biến để tạo ra các vị trí giới hạn, để thay đổi khả năng mã, để thêm hoặc tối ưu hóa các trình tự điều hòa phiên mã và/hoặc dịch mã, v.v.. Cũng có thể đột biến axit nucleic để thay thế các axit amin được mã hóa. Ví dụ, có thể sử dụng để tạo ra một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, v.v.) đột biến thay thế axit amin, mất và/hoặc thêm axit amin vào trình tự axit amin của kháng thể. Các đột biến điểm đã nêu có thể làm thay đổi chức năng của cơ quan phản ứng lại kích thích, thay đổi ái lực gắn kết kháng nguyên, biến đổi sau dịch mã, tính sinh miễn dịch, v.v., có thể tạo ra các axit amin dùng để gắn các nhóm cộng hóa trị (ví dụ, các nhãn gắn) hoặc có thể tạo thành các đuôi (ví dụ, dùng cho mục đích tinh sạch). Có thể được tạo đột biến tại các vị trí nhất định hoặc có thể được tạo ra ngẫu nhiên, sau đó chọn lọc (ví dụ, tiến hóa phân tử). Ví dụ, một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa cho các vùng CDR bất kỳ, các vùng biến đổi chuỗi

nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể có thể bị đột biến ngẫu nhiên hoặc đột biến định hướng để tạo ra các đặc tính khác nhau trong các axit amin được mã hóa. Các đột biến đã nêu là kết quả của quá trình lặp đi lặp lại trong đó các đột biến đầu tiên được giữ lại và các đột biến mới tại các vị trí nucleotit khác được tạo ra. Ngoài ra, các đột biến thu được từ các bước độc lập có thể được kết hợp lại. Các đặc tính khác nhau được tạo ra trong các axit amin được mã hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ái lực được tăng lên.

Các hình vẽ, danh sách trình tự và các ví dụ thực hiện sáng chế sau đây chỉ nhằm mục đích minh họa rõ hơn sáng chế. Chúng không được dự định làm giới hạn đối tượng được bảo hộ trong sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương án được lấy làm ví dụ trong sáng chế được trình bày trong phần ví dụ thực hiện sáng chế sau đây. Các ví dụ sau đây chỉ được trình bày bằng cách minh họa và đểgiúp người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sử dụng sáng chế. Các ví dụ không được dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Chọn lọc các vacxin bệnh dại để phân lập các kháng thể trung hòa phổ rộng.

Để phân lập các kháng thể trung hòa phổ rộng có khả năng trung hòa các chủng RABV cũng như các chủng lyssavirut không phải RABV, 90 mẫu huyết tương lấy từ các vacxin được sàng lọc để phát hiện nồng độ cao của các kháng thể gắn với G protein của RABV (chủng CVS-11) bằng kỹ thuật ELISA (Fig. 2A) và 29 mẫu được chọn có hàm lượng liên kết cao nhất (EC_{50}> 50) để phân tích thêm. Cụ thể là 29 mẫu huyết tương được chọn được kiểm tra khả năng trung hòa của chúng trên một tập hợp gồm 12 lyssavirut dạng giả bao gồm các virut RABV nhóm I, DUVV, KHUV, EBLV1, ARAV, EBLV2, IRKV, ABLV, virut RABV nhóm II, LABV, SHIBV, MOKV, và WCBV nhóm III (Fig. 2B). Globulin miễn dịch chống bệnh dại người (HRIG) Berirab® (Zydus Cadila) được đưa vào để tham khảo. Theo dự kiến, tất cả các mẫu đều được trung hòa, mặc dù có các mức độ khác nhau, chủng RABV CVS-11 tương đồng. Khả năng trung hòa của các loài lyssavirut khác thay đổi đáng kể ở tất cả các người hiến được kiểm tra nơi một số trường hợp tất cả các loài đều được trung hòa. Lưu ý, HRIG (Berirab®) chỉ thể hiện hoạt tính trung bình trong việc kháng lại các

loài không phải RABV nhóm I, và không phản ứng chéo với các virut nhóm II và III. Phân tích này cho phép chọn ra bốn vacxin từ những người hiến máu dùng cho bước phân lập và mô tả đặc tính sau đó của các kháng thể có tiềm năng trung hòa phổ rộng.

Ví dụ 2: Phân lập và mô tả đặc tính của các kháng thể trung hòa phổ rộng virut dại

Các tế bào B nhớ IgG+ được phân lập từ các tế bào máu ngoại vị PBMC được bảo quản lạnh của bốn vacxin được chọn sử dụng các microbead (hạt làm sạch) CD22 (Miltenyi Biotec), sau đó làm tiêu dịch của các tế bào mang IgM, IgD và IgA bằng phương pháp phân loại tế bào. Các tế bào B nhớ từ bốn vacxin được chọn sau đó được làm bất tử với EBV (Epstein Barr Virus) và CpG (CpG oligodeoxynucleotit 2006) trong các giếng nhân bản như đã mô tả trước đó (Traggiai, E. et al., Nat. Med. 10, 871–875, 2004) và sau đó dịch nổi nuôi cấy được kiểm tra bằng sàng lọc sơ cấp sử dụng thử nghiệm trung hòa dạng giả CSV-11 RABV trên đĩa 384 giếng (chủng tham chiếu CVS-11, chủng vacxin). Các tế bào thận phôi người 293T được sử dụng để sản xuất lentivirut dạng giả (thay thế lyssavirut). Các thử nghiệm trung hòa được tiến hành trên các tế bào thận chuột đồng sơ sinh 21 dòng 13 (HBK). Trong đĩa 384 giếng, virut dạng giả CVS-11 thu được từ 50-100 x 10^4 đơn vị ánh sáng tương đối (relative light units - RLU) được ủ với huyết thanh pha loãng hai lần trong một giờ tại 37% (5% CO2) trước khi bổ sung thêm 3'000 tế bào BHK-21. Lại tiếp tục ủ chúng trong 48 giờ nữa sau khi loại bỏ dịch nổi và bổ sung thêm 15 µl thuốc thử Steadylite (Perkin Elmer). Hoạt tính của enzym Luciferaza được phát hiện sau 5 phút bằng cách đọc trên đĩa Synergy microplate luminometer (BioTek) (Wright, E. et al., J Gen. Virol 89, 2204–2213, 2008). Thu lấy các chủng nuôi cấy dương tính và nhân lên. Từ các chủng nuôi cấy dương tính, các trình tự VH và VL được khôi phục bằng RT-PCR. Các kháng thể RVC20 và RVC58 được tách dòng trong vectơ biểu hiện lambda Ig hoặc kappa IG và IgG1 người (được Michel Nussenzweig, Rockefeller University, New York, US cung cấp) về cơ bản đã mô tả (Tiller T, Meffre E, Yurasov S, Tsuiji M, Nussenzweig MC, Wardemann H (2008) Efficient generation of monoclonal antibodies from single human B cells by single cell RT-PCR and expression vector cloning. J Immunol Methods 329: 112-124). Các kháng thể đơn dòng được sản xuất tử các tế bào B bất tử EBV hoặc bởi chuyển nạp tạm thời của các tế bào Freestyle 293 (Invitrogen). Thu lấy dịch nổi từ các tế bào B hoặc tế bào chuyển nhiễm thu được và IgG được tinh sạch ái lực bằng phương pháp sắc ký protein A hoặc protein B (GE Healthcare) và khử muối

chống PBS.

Năm trăm kháng thể đơn dòng người được phân lập khả năng trung hòa RABV của chúng. Hai mươi mốt kháng thể đơn dòng người được chọn có hiệu quả trung hòa cao kháng lại CVS-11 RABV, với giá trị IC_{90} (là nồng độ kháng thể đủ để trung hòa 90% lây nhiễm virut) nằm trong khoảng từ 0,01 đến 317 ng/ml (Fig. 3), được sản xuất bởi các tế bào B bất tử EBV và được tinh sạch ái lực bằng phương pháp sắc ký Protein A hoặc Protein G (trong trường hợp của IgG3). HRIG và hai kháng thể đơn dòng người tham chiếu (CR57 và CR4098) đã được phát triển nghiên cứu đến giai đoạn III để thay thế các RIG (nhưng hiện tại bị thất bại do thiếu hoạt tính trung hòa kháng lại một số chủng RABV hiện có) cũng được thử nghiệm. Ngoài ra, tất cả các kháng thể đều cho thấy khả năng gắn kết với G protein của RABV bằng ELISA (CVS-11). Để đạt được điều này, phải sử dụng thử nghiệm ELISA tiêu chuẩn. Tóm lại, các đĩa ELISA được phủ với 5 µg/ml G protein của RABV, bị chặn bởi 10% FCS trong PBS, được ủ với huyết thanh hoặc kháng thể người và được rửa sạch. Các kháng thể gắn kết được phát hiện bằng cách ủ với IgG dê kháng người liên hợp AP (Southern Biotech). Sau đó rửa các đĩa, bổ sung thêm cơ chất (p-NPP, Sigma) và đem đọc tại bước sóng 405 nm. Ái lực tương đối của huyết thanh gắn kết hoặc kháng thể đơn dòng gắn kết được xác định bằng cách đo độ pha loãng của huyết thanh (ED50) hoặc nồng độ của kháng thể cần để thu được lớn nhất là 50% gắn kết tại thời điểm bão hòa (EC50).

Để hiểu được liệu quyết định kháng nguyên (epitop) cùng gốc ở dạng cấu hình bậc ba hay không, G protein của RABV được chạy trên gel SDS-PAGE dưới các điều kiện khử (under reducing - RED) hoặc không khử (under reducing - NR) và được dò bằng phương pháp Western blot với tất cả các kháng thể đơn dòng người được phân lập. Trừ một vài ngoại lệ (RVB143, RVC44 và RVC68), tất cả các kháng thể đều không gắn với G protein dưới các điều kiện khử, do đó có thể đưa ra giả thuyết rằng epitop được nhận biết có cấu hình bậc ba.

Ví dụ 3: Nghiên cứu sự canh trạnh kháng thể: nhận biết các vị trí kháng nguyên trên G protein RABV.

Tiến hành các nghiên cứu về sự cạnh tranh để xác định khoảng cách trong không gian của mỗi epitop trong số các epitop cấu hình bậc 3 được nhận biết bởi tất cả các kháng thể trong tập hợp. Trước đó, hai kháng thể tham chiếu là CR57 và CR4098

đã lần lượt nhận biết các vị trí kháng nguyên I và III trên G protein (Bakker, A. B. H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005; de Kruif, J. et al., Annu Rev Med 58, 359–368, 2007), và do đó được sử dụng trong thử nghiệm như các đầu dò để xây dựng bản đồ tính đặc hiệu của mỗi kháng thể trong tập hợp các kháng thể. Cụ thể là, các kháng thể CR57, CR4098 và toàn bộ 21 kháng thể được chọn được tinh sạch và gắn nhãn biotin và sau đó tiến hành kiểm tra bằng ELISA trong thử nghiệm cạnh tranh ma trận đầy đủ, trong đó các kháng thể không được gắn nhãn được ủ lần thứ nhất tại nồng độ 10 µg/ml trong các đĩa được phủ G protein RABV, sau đó bổ sung thêm các kháng thể đã gắn biotin ở nồng độ 100 ng/ml (tức là, có nồng độ thấp hơn một trăm lần so với nồng độ của kháng thể không được gắn nhãn), phát hiện liên kết bằng alkalin-phosphataza liên hợp streptavidin. Các kết quả được trình bày trong Fig.4 và chỉ ra phần trăm cản trở sự gắn kết của các kháng thể được gắn nhãn trong tất cả các tổ hợp có thể có (tức là, 21 x 21) và được sử dụng để chia các kháng thể thành 6 nhóm. Khi đọc các kết quả cạnh tranh, cần lưu ý rằng nếu hai epitop chồng lên nhau, hoặc các vùng bị che phủ bởi các cánh của hai kháng thể chồng lên nhau, sự cạnh tranh hầu hết là cạnh tranh hoàn toàn. Hiệu quả ức chế hoặc tăng cường yếu dẫn tới giảm ái lực do tác động lập thể hoặc dị lập thể.

Các kháng thể RVA125, RVC3, RVC20 và RVD74 được xếp vào nhóm vị trí kháng nguyên I theo sự cạnh tranh với CR57 và sự cạnh tranh lẫn nhau của chúng. Lưu ý rằng, khả năng gắn kết của các kháng thể vị trí kháng nguyên I trên G protein được tăng lên bởi phân nhóm các kháng thể không phải là kháng thể vị trí kháng nguyên I. RVA122, RVA144, RVB492, RVC4, RVC69, RVC38 và RVC58 được xếp vào nhóm vị trí kháng nguyên III theo sự cạnh tranh với CR4098 và theo sự cạnh tranh lẫn nhau của chúng. RVC58 chỉ cạnh tranh một phần với CR4098 (nghĩa là 64%) cũng như cạnh tranh một phần với các kháng thể không phải vị trí I và III, do đó, đặt ra giả thuyết rằng, quyết định kháng nguyên (epitop) RVC58 có thể chỉ chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III. Nhóm thứ ba gồm các kháng thể RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 được đặt tên là III.2 do khả năng gắn kết của tất cả các kháng thể được gắn nhãn biotin này bị cản trở bởi tất cả các kháng thể vị trí kháng nguyên III tuy nhiên, ngược lại tất cả các kháng thể này không có khả năng cản trở sự gắn kết của một vài kháng thể vị trí kháng nguyên III như CR4098, RVC4 và RVC69. Khi đọc kết quả cạnh tranh, cần lưu ý rằng khi hai epitop chồng lên nhau, hoặc các

vùng bị che phủ bởi các cánh của hai kháng thể chồng lên nhau, sự cạnh tranh hầu hết là cạnh tranh hoàn toàn. Hiệu quả ức chế hoặc tăng cường yếu dẫn tới giảm ái lực do tác động lập thể hoặc dị lập thể. Vì lý do này, ở đây chúng ta định nghĩa về vị trí kháng nguyên mới có tên là III.2, gần giống với vị trí kháng nguyên III trên G protein. Theo các tiêu chí tương tự, ba vị trí bổ sung được xác định có tên là A, B và C. Vị trí A được xác định bằng một kháng thể RVB686 duy nhất mà khả năng gắn kết của nó làm ảnh hưởng đến khả năng gắn kết của đa số các kháng thể được gắn nhãn trong tập hợp, tuy nhiên ngược lại khả năng gắn kết của RBV686 được gắn nhãn không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào trong tập hợp. Những kết quả này có thể đưa ra giả thuyết rằng khả năng gắn kết của RVB686 bao gồm một tác động dị lập thể trên G protein, mà có khả năng tác động đến khả năng gắn kết của hầu hết các kháng thể khác. Vị trí B được xác định bằng kháng thể RVC44 mà sự gắn kết của nó không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào trong tập hợp. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể RVB143 và RVC68, cũng được nhận biết bởi epitop duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể còn lại. Lưu ý rằng, chỉ các kháng thể RVC44, RVB143 và RVC68 trong tập hợp các kháng thể này có khả năng gắn kết bằng western blot trên G protein dưới các điều kiện khử, cho thấy rằng chúng nhận biết quyết định kháng nguyên (epitop) bậc 1 trên G protein RABV.

Ví dụ 4: Các kháng thể theo sáng chế trung hòa hiệu quả RABV và lyssavirut không phải RABV.

Mười hai trong số 22 kháng thể được chọn dựa trên tiềm năng của chúng và khả năng nhận biết các vị trí riêng biệt trên G protein RABV để thử nghiệm, cùng với các kháng thể tham chiếu CR57, CR4098, RAB1 và Berirab® (HRIG), kháng lại lượng lớn lyssavirut sử dụng virut dạng giả (22 chủng, như được trình bày trong Fig.5) và các chủng virut lây nhiễm (16 chủng, như được trình bày trong Fig.6) bao gồm các loài RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIBV, BBLV, WCBV và IKOV (Fig. 5, 6 và 7).

Tạo ra các virut dạng giả và thử nghiệm trung hòa: các tế bào thận phôi người 293T dòng 17 (HEK 293T/17; ATCC CRL-11268) được sử dụng để tạo ra các lentivirut dạng giả. Các thử nghiệm trung hòa được tiến hành trên các tế bào BHK-21 dòng 13 (ATCC CCL-10). Trong các đĩa 384 giếng, virut dạng giả tạo ra 50-100 x 104

đơn vị ánh sáng tương đối (RLU) được ủ với huyết thanh pha loãng hai lần hoặc các kháng thể trong 1 giờ tại 37% (5% CO2) trước khi bổ sung thêm 3'000 tế bào BHK-21. Chúng được ủ thêm 48 giờ, sau khi loại bỏ dịch nổi và bổ sung thêm 15 µl thuốc thử Steadylite (Perkin Elmer). Hoạt tính enzyme Luciferaza được phát hiện sau 5 phút bằng các đọc các đĩa trên Synergy microplate luminometer (BioTek) (Wright et al. 2008). Phát hiện hiện tượng giảm lây nhiễm bằng cách so sánh RLU khi có mặt và không có mặt kháng thể và được biểu diễn bằng tỷ lệ trung hòa. Hiệu quả trung hòa của các kháng thể đơn dòng ở đây được đo là IC_{90}, được định nghĩa là nồng độ kháng thể mà tại nồng độ này làm giảm 90% RLU so với các giếng virut đối chứng sau khi trừ đi RLU ban đầu trong các giếng tế bào đối chứng (ID_{50} đối với huyết thanh, tức là độ pha loãng của huyết thanh tại mà tại đó RLU bị giảm đi 50%). Các giá trị ID_{50} đối với huyết thanh tương ứng với độ pha loãng mà tại đó RLU bị giảm đi 50%.

Thử nghiệm đáp ứng tế bào lyssavirut và thử nghiệm trung hòa *in vitro.* Các RABV và các lyssavirut không phải RABV được chọn được phân lập trên Neuro-2A (ATCC cat n. CCL-131), sau đó đáp ứng tế bào và tạo ra các gốc làm việc và chuẩn độ trên các tế bào BSR (là một dòng của tế bào BHK-21). Hai quy trình được thay đổi một chút từ thử nghiệm trung hòa virut với kháng thể huỳnh quang (mFAVN) và từ thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh (mRFFIT) (FAVN: Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998; RFFIT: Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973, Warrell MJ, Riddell A, Yu LM, Phipps J, Diggle L, Bourhy H, Deeks JJ, Fooks AR, Audry L, Brookes SM, et al (2008) A simplified 4-site economical intradermal post-exposure rabies vaccine regimen: a randomised controlled comparison with standard methods. PLoS Negl Trop Dis 2: e224), lần lượt được áp dụng để kiểm tra hiệu lực của kháng thể nghiên cứu. CVS-11 được tinh sạch và chuẩn độ trên BSR hoặc BHK-21, lần lượt theo thử nghiệm trung hòa nhỏ giọt, RFFIT hoặc FAVN. Đồng thời, các thử nghiệm FAVN và RFFIT tiêu chuẩn cũng được thực hiện để đánh giá hiệu lực của các kháng thể được kiểm tra trong việc kháng lại CVS-11. Tóm lại, các thử nghiệm mFAVN dựa trên thử nghiệm FAVN tiêu chuẩn nhưng chúng được tiến hành trên các tế bào BSR.

Ngưỡng trung hòa là giá trị IC_{90} (đối với virut dạng giả) hoặc là IC_{50} (đối với virut lây nhiễm) trên 10000 ng/ml. Nói cách khác, nếu thu được giá trị IC_{90} (đối với virut dạng giả) hoặc IC_{50} (đối với virut lây nghiễm) trên 10000 ng/ml với một kháng

thể, kháng thể đó được xem là "không trung hòa".

Trong số các kháng thể gắn vào vị trí kháng nguyên I được kiểm tra trong thử nghiệm trung hòa virut dạng giả (Wright, E. et al., J Gen. Virol 89, 2204–2213, 2008; Wright, E. et al., Vaccine 27, 7178–7186; 2009), kháng thể RVC20 có độ rộng phản ứng lớn nhất để trung hòa các virut nhóm I RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV cũng như SHIBV từ nhóm II và IKOV từ nhóm IV được giả định (Fig. 5). Những mô tả đầy đủ về các chủng virut giả được sử dụng có thể xem trong Fig. 1. Khi so sánh, kháng thể CR57 gắn với vị trí kháng nguyên I rõ ràng là có hiệu quả kém hơn so với kháng thể RVC20, do nó không có không có khả năng trung hòa các chủng EBLV-1, SHIBV và IKOV (tham khảo Fig. 5).

Khi thử nghiệm trên các chủng virut lây nhiễm sử dụng thử nghiệm FAVN (Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998) hoặc thử nghiệm RFFIT (Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973), kháng thể RVC20 cũng có khả năng phản ứng rất tốt trong độ rộng phản ứng của nó trong việc trung hòa RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, BBLV cũng như nhóm II MOKV (tham khảo Fig. 6; chỉ có một loài không được trung hòa là LBV). Mô tả chi tiết, đầy đủ về các chủng virut lây nhiễm được sử dụng có thể lấy từ Fig. 1. Theo một phân tích tương tự, kháng thể CD57 không trung hòa chủng EBLV-1 (khi quan sát với dạng virut giả), chủng LBV và chủng MOKV (tham khảo Fig. 6).

Trong số các kháng thể gắn vào vị trí kháng nguyên III được kiểm tra trong thử nghiệm trung hòa virut dạng giả, kháng thể RVC58 trung hòa hiệu quả với giá trị IC_{90} < 10 ng/ml ở tất cả các virut nhóm I (nghĩa là, RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, tham khảo Fig. 5). Khi so sánh, kháng thể CR4098 gắn với vị trí kháng nguyên III có khả năng phản ứng kém hơn so với RVC58, do nó không có khả năng trung hòa các chủng DUVV, EBLV-1, EBLV-2, IRKV và KHUV và trung hòa rất yếu ARAV (tham khảo Fig. 5).

Khi thử nghiệm trên các virut lây nhiễm, trong tất cả các kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên III được kiểm tra, RVC58 cũng có khả năng phản ứng rất tốt trong độ rộng phản ứng của nó, do nó có thể trung hòa hiệu quả RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, BBLV (tham khảo Fig. 6; chỉ có các loài không được trung hòa là MOKV và LBV). Theo một phân tích tương tự kháng thể CR4098 không trung hòa

chủng EBLV-1, DUVV, BBLV, một trong bốn chủng RABV được kiểm tra, một trong ba chủng EBLV-2 được kiểm tra và một trong hai chủng ABLV được kiểm tra (tham khảo Fig. 6).

Lưu ý rằng, kháng thể RVC68 gắn vào vị trí kháng nguyên C trung hòa tất cả các virut dạng giả nhóm I và II được thử nghiệm (chỉ có WCBV là không được trung hòa), mặc dù có các giá trị IC_{90} cao hơn 10-100 lần so với các kháng thể RVC20 và RVC58 (Fig. 5 và 7), Tuy nhiên, khi tiến hành thử nghiệm trên các virut lây nhiễm, kháng thể RVC68 không có khả năng trung hòa EBLV, ABLV, MOKV cũng như một trong số bốn chủng RABV được kiểm tra (Fig. 6 và 7).

Nếu việc phân tích về phổ rộng phản ứng của kháng thể bị giới hạn ở các lyssavirut không phải RABV (ghi nhận là dương tính với tất cả virut được trung hòa có giá trị IC_{50} <10000 ng/ml), kháng thể RVC58 (gắn vào vị trí kháng nguyên III) có khả năng trung hòa 69% các lyssavirut không phải RABV được thử nghiệm và, đáng chú ý là, trung hòa tất cả các chủng lyssavirut nhóm I được thử nghiệm. Trong khi đó, kháng thể CR4098 và RAB1 chỉ trung hòa lần lượt là 19% và 27% các lyssavirut không phải RABV và lần lượt 23% và 25% các lyssavirut nhóm I được thử nghiệm. Cùng với đó, kháng thể RCV20 (gắn vào vị trí kháng nguyên I) có khả năng trung hòa 72% các lyssavirut không phải RABV và 91% lyssavirut nhóm I. Trong khi đó, kháng thể CR57 trung hòa lần lượt 47% và 68% các lyssavirut không phải RABV và lyssavirut nhóm I.

Khi kết hợp lại với nhau, các kháng thể RVC58 và RVC20 trung hòa lần lượt 78% và 100% các lyssavirut không phải RABV và các lyssavirut nhóm I, trong khi đó kết hợp CR57 và CR4098 chỉ trung hòa lần lượt 50% và 68% các lyssavirut không phải RABV và lyssavirut nhóm I (các Fig 8A-B). Các HRIG cũng được thử nghiệm trong việc kháng lại các virut và virut dạng giả và thậm chí nếu nó là hỗn hợp của các kháng thể đa dòng kháng G protein chỉ trung hòa có 25% lyssavirut không phải RABV và 36% lyssavirut nhóm I (tham khảo Fig. 8).

Để nghiên cứu về khả năng của các kháng thể theo sáng chế trong việc trung hòa các chủng RABV khác nhau một cách chi tiết hơn, phân tích về hoạt tính trung hòa của các kháng thể RVC20 và RVC58 theo sáng chế, và của các kháng thể CR57 và CR4098 tham chiếu được mở rộng thành một tập hợp kháng thể lớn hơn gồm các chủng RABV (n=26, 24 virut và 2 virut dạng giả), đại diện cho tất cả các giống hiện có

(nghĩa là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực) (Fig.9). Toàn bộ 26 chủng RABV được trung hòa hiệu quả bằng các kháng thể RVC20 và RVC58 với các giá trị cấp số nhân trung bình của IC_{50} và IC_{90} lần lượt là 26 và 12 ng/ml. Trong khi đó, các kháng thể CR57 và CR4098 cũng trung hòa tất cả các RABV được thử nghiệm nhưng có giá trị IC_{50} và IC_{90} cao hơn, lần lượt là 61 và 100 ng/ml. Lưu ý rằng, kháng thể CR4098 trung hòa hai chủng RABV với giá trị IC_{50} >10000 ng/ml, nồng độ mà hầu như không có hiệu quả trong *in vivo.*

Trong bước tiếp theo, phân tích về hoạt tính trung hòa RABV của các kháng thể tiếp tục được mở rộng, bao gồm kháng thể tham chiếu RAB1 và một tập hợp lớn hơn các chủng RABV (n=35, 27 virut và 8 virut dạng giả; CVS-11 được thử nghiệm là virut lây nhiễm và là virut dạng giả với Fig. 10 bao gồm CVS-11 được thử nghiệm như là virut lây nhiễm và Fig. 11 trình bày kết quả của cả ba thử nghiệm trung hòa được tiến hành với CVS-11, lần lượt là thử nghiệm trung hòa virut dạng giả (PV), FAVN và RFFIT), đại diện cho tất cả các giống hiện có (nghĩa là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực) (Fig.10B). Mô tả đầy đủ về các chủng có thể xem trong Fig. 1. Như được trình bày trong Fig. 10A, toàn bộ 35 chủng RABV được trung hòa hiệu quả bằng các kháng thể RVC20 và RVC58 với các giá trị IC_{50} (đối với các virut lây nhiễm) hoặc giá trị IC_{90} (đối với các virut dạng giả) nằm trong khoảng từ 0,1 đến 140 ng/ml. Trong khi đó, các kháng thể tham chiếu CR57, CR4098 và RAB1 trung hòa toàn bộ các RABV được thử nghiệm, nhưng với hiệu lực thấp hơn đáng kể so với RVC20 và RVC58 và có khoảng giá trị IC_{50} hoặc IC_{90} lớn hơn (nghĩa là, lần lượt là 0,6 – 969 ng/ml, 0,7 – 23600 ng/ml, 1 – 4153 ng/ml, tham khảo Fig. 10A). Tương tự như với RVC20 và RVC58, HRIG trung hòa phần lớn các chủng RABV được thử nghiệm với khoảng giá trị IC_{50} nhỏ. Quan trọng là, các kháng thể CR4098 và RAB1 trung hòa lần lượt sáu chủng RABV và ba chủng RABV, với giá trị IC_{50} >1000 ng/ml (tham khảo Fig. 10A), nồng độ mà hầu như không có hiệu quả trong phòng ngừa sau phơi nhiễm.

Phân tích này được mở rộng ra tới 8 chủng RABV khác mà khả năng gắn của các kháng thể vào các tế bào biến nạp G-protein được thử nghiệm bằng kỹ thuật đếm dòng chảy tế bào (Fig. 11). Toàn bộ gen G trong các chủng RABV được tối ưu hóa codon để biểu hiện tế bào nhân thực và tách dòng vào trong vectơ phCMV1

(Genlantis). Các plasmid biểu hiện G protein được sử dụng để biến nạp các tế bào 293F-Expi. Ba ngày sau khi biến nạp, thu lấy các tế bào, cố định và thẩm thấu với saponin để nhuộm màu miễn dịch cho tất cả kháng thể thử nghiệm. Khả năng gắn của các kháng thể vào các tế bào biến nạp được phân tích sử dụng Becton Dickinson FACSCanto2 (BD Biosciences) với phần mềm FlowJo (TreeStar). Như được trình bày trong Fig. 11, tất cả các chủng RABV này được nhận biết bởi kháng thể RVC20 và RVC58, trong khi RAB1 không gắn với chủng 91001USA và CR57 không gắn với các chủng RV/R.3PHL/2008/TRa-065 và 09029NEP. Những phát hiện này làm tăng thêm số lượng các chủng được diện biết bởi RVC20 và RVC58 lên tới 43 chủng.

Fig. 10B thể hiện cây phát sinh loài của 2215 trình tự G protein RABV lấy từ cơ sở dữ liệu công cộng. Những chấm màu đen in đậm là các trình tự của virut RABV được thử nghiệm (không có mặt hai trình tự G protein, tức là CV9.13, Mauritania/dog/2019-2006/V6235-2007 và do đó chúng không nằm trong cây phát sinh loài). Điều này chỉ ra rằng các virut RABV được thử nghiệm (các chấm màu đen) đại diện cho tất cả các giống hiện có (nghĩa là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực).

Các kết quả trung hòa sử dụng virut RABV giả (pseudoviruses - PV, thử nghiệm trung hòa virut dạng giả được thực hiện theo Wright, E. et al., J Gen. Virol 89, 2204–2213, 2008 and Wright, E. et al., Vaccine 27, 7178–7186, 2009, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn) hoặc các virut lây nhiễm (như được đo bằng thử nghiệm trung hòa virut với kháng thể huỳnh quang FAVN, theo Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn, hoặc bằng thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh, RFFIT, theo Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn) và đặc tính của các RABV và các chủng không phải RABV được chọn được trình bày lần lượt trong các Fig 12 và 13.

Ví dụ 5: Xây dựng bản đồ epitop sử dụng virut dạng giả đột biến

Để tinh sạch hơn các epitop đặc hiệu trong số 12 kháng thể đơn dòng được chọn, chúng được thử nghiệm kháng lại virut RABV dạng giả được thiết kế di truyền. Cụ thể là, đột biến axit amin K226E, K226N, G229E, N336D và N336S được tìm thấy trong các thể đột biến thoát virut CR57 và CR4098 đã được mô tả trong Bakker, A. B.

H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005 and in Marissen, W. et al., J Virol 79, 4672–4678, 2005, được đưa vào trong gen G của CVS-11 và tạo ra các virut dạng giả đột biến tương ứng.

Một tập hợp gồm 12 kháng thể được chọn cũng như các kháng thể tham chiếu CR57 và CR4098 được thử nghiệm tại nồng độ 15 µg/ml về khả năng trung hòa 5 virut dạng giả đột biến (K226E, K226N, G229E, N336D và N336S) và đem so sánh với chủng CVS-11 bố mẹ tương ứng. Các kết quả của phân tích được tóm tắt trong Fig. 14. Các kháng thể CR57 và RVC20, chứ không phải là RVC3, không có khả năng trung hòa thể đột biến CVS-11 thoát CR57 là K226E, K226N và G229E. Các kết quả này chỉ ra rằng RVC3 nhận diện một epitop trên vị trí kháng nguyên I, vị trí này khác với vị trí được nhận diện bởi CR57, và chỉ ra rằng RVC20 nhận diện epitop tương tự epitop được nhận diện bởi CR57. Tuy nhiên, việc phát hiện ra rằng kháng thể RVC20 được đặc trưng ở độ rộng của phản ứng kháng lại các lyssavirut không phải RABV (Fig. 8) lớn hơn so với kháng thể CR57 chỉ ra rằng cách kháng thể RVC20 nhận biết epitop cùng gốc của nó tại vị trí kháng nguyên I khác biệt so với cách nhận biết của kháng thể CR57, có thể chịu được nhiều đột biến axit amin tại vị trí gắn kết và xung quanh các gốc hơn.

Tất cả các kháng thể, bao gồm CR4098, ngoài trừ RAB1 (số liệu không được trình bày), đều có khả năng trung hòa thể đột biến CVS-11 thoát CR4098 là N336D, do đó chỉ ra rằng đột biến này không có tác động đáng kể đến việc gắn với các epitop cùng gốc trong trường hợp của G protein trên CSV-11. Ngoài ra, tất cả các kháng thể gắn với vị trí kháng nguyên III, cụ thể là CR57, có độ rộng phản ứng với lyssavirut không phải RABV lớn hơn so với kháng thể CR4098 (Fig. 7).

Ví dụ 6: Phân tích sự bảo thủ của các epitop RVC20 và RVC58 trong các chủng RABV

Vị trí kháng nguyên I nhận diện bởi kháng thể CR57 được xác định bằng phân tích quét peptit và bằng cách phân lập các thể đột biến thoát virut K226N, và G229E và phát hiện để xác định vị trí vùng gắn kết nhỏ nhất được tạo thành bởi các gốc KLCGVL (trình tự liên ứng và các vị trí 226-231 của G protein RABV; Marissen, W. et al., J. Virol 79, 4672–4678, 2005). Các kết quả cạnh tranh trình bày trong Fig. 4 và các kết quả thử nghiệm virut dạng giả đột biến được trình bày trong Fig. 14 chỉ ra rằng

kháng thể RVC20 gắn với vị trí kháng nguyên I. Do đó, các tác giả sáng chế đã phân tích mức độ bảo thủ của các gốc axit amin trên vị trí kháng nguyên I trong một tập hợp gồm 2566 trình tự thu được từ các chủng RABV độc lập lấy từ các cơ sở dữ liệu công cộng đại diện cho sự đa dạng RABV trên toàn cầu.

Nhờ đó, phát hiện ra rằng vị trí 226 là K chiếm 99,73% và là R chiếm 0,19% trình tự được phân tích (R hoặc K chiếm 99,92% các chủng) (Fig. 15). Kháng thể RVC20, chứ không phải kháng thể CR57 trung hòa virut bám vào cả vị trí K và R (Fig. 16). Vị trí đa hình còn lại trên vị trí kháng nguyên I là gốc 231, vị trí này là L chiếm 67,65%, là S chiếm 17,30% và là P chiếm 14,73% các chủng RABV được phân tích (L, S hoặc P có mặt trong 99,69% các trình tự, Fig 15A). Các kháng thể RVC20 và CR57 được thử nghiệm và trung hòa các lyssavirut gắn vào các gốc leuxin, serin hoặc prolin tại vị trí 231 (Fig. 16). Phân tích này đã xác nhận các kết quả trung hòa trước đó của chúng tôi và chỉ ra rằng epitop kháng thể RVC20 bảo thủ cao trong RABV. Quan trọng là, cả ba thể đột biến CVS-11 thoát CR57 và RVC20 tại vị trí 226 đều được trung hòa hiệu quả bởi kháng thể RVC58.

Phân tích tương tự cũng được thực hiện với kháng thể RVC58 gắn với vị trí kháng nguyên III. Vị trí kháng nguyên III chủ yếu được tạo ra bởi các gốc KSVRTWNEI (trình tự liên ứng và các vị trí 330-338 của G protein RABV; (Walker, P. J. et al., J. Gen. Virol 80, 1211–1220, 1999; Bakker, A. B. H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005). Các kết quả cạnh tranh được trình bày trong Fig. 4 và các kết quả thử nghiệm virut dạng giả đột biến được trình bày trong Fig. 14 chỉ ra rằng kháng thể RVC58 nhận biết các gốc trong vị trí kháng nguyên I. Do đó, các tác giả sáng chế đã phân tích, như đã mô tả đối với vị trí kháng nguyên I ở trên, mức độ bảo thủ của các gốc axit amin tại vị trí kháng nguyên III trong tập hợp gồm 2566 trình tự thu được từ các chủng RABV độc lập lấy từ các cơ sở dữ liệu công cộng đại diện cho sự đa dạng RABV trên toàn cầu (như với vị trí kháng nguyên I ở trên).

Nhờ đó, phát hiện ra rằng các vị trí 330, 331, 334, 335 và 337 bảo thủ cao (>99,61%), trong khi các vị trí 332, 333, 336 và 338 là đa hình (Fig. 15B). Vị trí 330 là K chiếm 99,61% và là N chiếm 0,27% các trình tự phân tích (K hoặc N có mặt trong 99,88% các trình tự). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa virut bám vào K hoặc N tại vị trí 330 (Fig. 16). Vị trí 331 bảo thủ cao được mã hóa bởi S chiếm 99,96%

các chủng. Vị trí 332 là V chiếm 77,05% và là I chiếm 22,88% các trình tự (V hoặc I có mặt trong 99,93% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa các lyssavirut gắn vào V hoặc I tại vị trí 332. Vị trí 333 là R chiếm 96,22% các chủng. Một vài gốc khác, nhưng không phải là D, được tìm thấy tại vị trí 333 trên các chủng RABV. Ngược lại, các lyssavirut nhóm II gắn vào D tại vị trí này và các virut này không bị trung hòa bởi kháng thể RVC58, do đó, đưa ra giả thuyết rằng D tại vị trí 333 có thể tác động đến khả năng gắn kết của RVC58, nhưng gốc này không được tìm thấy trong các chủng RABV tự nhiên. Vị trí 334 là T chiếm 99,65% các chủng. Vị trí 335 là W chiếm 100% các chủng. Vị trí 336 là N chiếm 90,57%, là D chiếm 3,59%, là S chiếm 5,65% và là K chiếm 0,08% các chủng RABV được phân tích (N, D, S hoặc K có mặt trong 99,89% các chủng). Kháng thể RVC58 có khả năng trung hòa các lyssavirut gắn vào N, D, S hoặc K tại vị trí 336. Lưu ý rằng, RABV gắn với D tại vị trí 336 không bị trung hòa bởi kháng thể CR4098 và RAB1, do đó đưa ra giả thuyết rằng 4% RABV hiện có kháng lại sự trung hòa của kháng thể CR4098 và RAB1 một cách hiệu quả. Lưu ý rằng, đa số các chủng RABV châu Phi được phân tích ở đây (59,1%) gắn vào D tại vị trí đại diện 336. Các chủng này tương ứng với giống Châu Phi 2. Vị trí 337 là E chiếm 99,61% và là D chiếm 0,35% các chủng (E hoặc D có mặt trong 99,96% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy có khả năng trung hòa các lyssavirut gắn với E hoặc D tại vị trí 337. Cuối cùng, vị trí 338 là I chiếm 93,73% và là V chiếm 6,16% các chủng phân tích (I hoặc V có mặt trong 99,9% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa các lyssavirut gắn vào I hoặc V tại vị trí 338.

Do đó, kháng thể RVC58 nhận biết các chủng RABV và chủng không phải RABV gắn với các gốc trên các vị trí đa hình, các vị trí đại diện cho ít nhất 99,80% các RABV phân tích (Fig. 15B, Fig 16). Phân tích này xác nhận các kết quả trung hòa trước đó của chúng tôi trong đó kháng thể RVC58 trung hòa tất các các lyssavirut nhóm I được thử nghiệm và chỉ ra rằng epitop kháng thể RVC58 bảo thủ cao với RABV và các lyssavirut không phải RABV.

Tóm lại, hai kháng thể RVC58 và RVC20 trung hòa hiệu quả các chủng RABV người và động vật cũng như trung hòa hầu hết các lyssavirut không phải RABV (bao gồm các virut ở dơi Âu Á mới) bằng cách gắn với hai vị trí kháng nguyên riêng biệt (vị trí I và III) trên G protein của virut. Việc kết hợp hai kháng thể này đại diện cho một phương pháp điều trị với một độ rộng phản ứng chưa từng có và giảm nguy cơ

chọn lọc thể đột biến thoát.

Ví dụ 7: Các kháng thể RVC58 và RVC20 bảo vệ chuột đồng Xy-ri khỏi lây nhiễm RABV liều gây chết.

Để nghiên cứu liệu các kháng thể RVC58 và RVC20 trình diễn hoạt tính trung hòa kháng lại lây nhiễm RABV với liều gây chết *in vivo*, chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên chuột đồng Xy-ri (*Mesocricetus auratus*). Sau 6 giờ cung cấp một liều RABV CVS-11 gây chết (50 µl của $10^{5.7}$ TCID50/ml vào cơ bụng chân ở chân trái sau, chuột đồng (n=12 cho mỗi nhóm) không được điều trị hoặc phòng ngừa, được bắt đầu với một trong hai loại vacxin (Imovax; Sanofi-Pasteur: vacxin tế bào lưỡng bội người bất hoạt thương mại, loại này được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml vào cơ bụng chân ở chân trái sau, một liều tướng ứng với 0,125 đơn vị quốc tế của kháng nguyên dại) cộng với HRIG (Berirab®, 20 mg/kg, tương đương với 20 IU/kg và được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml), hoặc vacxin cộng với 0,045 mg/kg một hỗn hợp đẳng mol của các kháng thể RVC20 và RVC58 hoặc vacxin cộng với 0,045 mg/kg một hỗn hợp đẳng mol của các kháng thể RVC20 và RVC58. Động vật được điều trị cũng được nhận vacxin dại vào các ngày 3, 7, 14, và 28. Theo dõi các động vật trong suốt thời gian tiến hành thí nghiệm và giết chết nhân đạo nếu xuất hiện các dấu hiệu dại lâm sàng. 11 trên 12 động vật không được điều trị sau lây nhiễm đã chết vào ngày thứ 8 (Fig. 17). Phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn (PEP) dựa trên 20 mg/kg HRIG và vacxin đã làm giảm đáng kể tỷ lệ tử vong xuống 33% (có 8/12 động vật sống sót; Fig. 17). Đáng chú ý là, việc kết hợp các RVC58+RVC20 tại nồng độ 0,045 mg/kg (tương đương với 1/440 HRIG được cung cấp) bảo vệ được 75% các động vật (9/12), trong khi đó, tại liều lượng RVC58+RVC20 thấp hơn 10 lần (0,0045 mg/kg) chỉ bảo vệ được 33% động vật. Điều này đưa ra giả thuyết rằng nồng độ 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 là phù hợp nhất với liều lượng 20 mg/kg HRIG. Liều bảo vệ của 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 tương ứng ở người với tổng liều trung bình được cung cấp trong suốt quá trình phòng ngừa sau phơi nghiễm PEP chỉ là 3mg hỗn hợp RVC58+RVC20. Lượng này có thể được sản xuất và đưa vào dược phẩm ở dạng ổn định (nghĩa là được phẩm được đông khô lạnh, mà ở các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng các kháng thể đơn dòng được bản quản bằng đông khô lạnh ổn định trong thời gian 33 tháng tại nhiệt độ 40°C và trong 5 tháng tại nhiệt độ 50°C) và với một chi phí hợp lý cho các nước đang phát triển.

Ví dụ 8: Các kháng thể RVC58 và RVC20 không gây trở ngại tới việc tiêm vacxin

Trong suốt quá trình phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP, có khả năng việc sử dụng đồng thời các kháng thể và vacxin làm giảm khả năng của vacxin trong việc tạo ra các ngưỡng trung hòa của các kháng thể cần thiết đối với việc bảo vệ. Do đó, điều quan trọng là cần đánh giá mức độ mà kháng thể điều trị tác động đến việc tiêm vacxin. Để xác định tác động của hỗn hợp kháng thể đến hiệu lực vacxin, một thử nghiệm trên động vật in vivo đã được thực hiện với sự vắng mặt của RABV thử thách. Cụ thể là, tất cả động vật (n=12 cho mỗi nhóm) được chủng ngừa với vacxin bệnh dại vào ngày 0, 3, 7, 14 và 28 (Imovax ,Sanofi-Pasteur, được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml vào cơ bụng chân ở chân phải sau, một liều lượng tương đương với 0,125 đon vị quốc tế của kháng nguyên bệnh dại) và cung cấp đồng thời HRIG vào ngày thứ 0 (Berirab®, 20 mg/kg) hoặc một hỗn hợp đẳng mol RVC58+RVC20 với lượng 0,045 mg/kg hoặc 40 mg/kg (liều lượng cao hơn 888 lần) được tiêm tiêm bắp vào cơ bụng chân ở chân phải sau. Hàm lượng gắn kết huyết thanh (được đo bằng ELISA trên đĩa phủ G-protein của RABV bằng cách phát hiện các kháng thể chuột đồng gắn với G-protein bằng kháng thể đa dòng kháng chuột đồng liên hợp với alkaline-phosphataza), hàm lượng trung hòa huyết thanh (thử nghiệm trung hòa FAVN trên CVS-11; theo Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998) và nồng độ các kháng thể IgG người còn lại được xác định vào này thứ 42. HRIG và 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 không làm giảm lượng kháng thể gắn IgG chuột đồng nội sinh phản ứng với G protein của RABV (Fig. 18A) so với các động vật chỉ nhận mỗi vacxin. Lưu ý rằng, mức độ trung hòa kháng thể trong động vật được điều trị ở cả hai liều lượng 0,045 và 40 mg/kg tương đương với mức độ trung hòa do mỗi vacxin gây ra hoặc do vacxin và HRIG hiệp đồng điều trị và trong hầu hết các động vật có hàm lượng trung hòa trên 10 IU/ml (Fig. 18B). Cuối cùng, trong khi các nồng độ cao của các kháng thể người (trên 10 IU/ml) vẫn tìm thấy vào ngày 42 ở động vật được điều trị với 20 mg/kg HRIG hoặc 40 mg/kg RVC58+RVC20, những nồng độ rất thấp của IgG người không thể phát hiện được tìm thấy trong huyết thanh của động vật được điều trị với 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 (Fig. 18C). Những kết quả này đưa ra giả thuyết rằng liều lượng 0,045 mg/kg RVC58+RVC20, là liều lượng được cho là có khả năng bảo vệ, không làm ảnh hưởng đến việc sản xuất các kháng thể trung hòa virut ở các động vật khi tiêm vacxin RABV.

Ví dụ 9: Các kháng thể RVC58 và RVC20 hoạt động trị liệu ở chuột đồng Xy-ri bị

nhiễm RABV liều gây chết

Hiện nay, không có liệu pháp để điều trị bệnh dại. Việc nghiên cứu phát triển liệu pháp điều trị bệnh sẽ giúp ích cho ít nhất hai nhóm bệnh nhân: những người biết là bị phơi nhiễm với RABV nhưng họ không nhận được phòng ngừa sau phơi nhiễm ngay lập tức do hoàn cảnh và họ có nguy cơ phát triển lây nhiễm RABV cao, và những người không không biết là đã tiếp xúc với virut và xuất hiện các dấu hiệu (có mức độ nghiệm trọng khác nhau) của bệnh (ví dụ, những các cá thể bị lây nhiễm do không để ý tiếp xúc với dơi bị nhiễm bệnh; RABV có nguồn gốc từ dơi, nơi mà bệnh dại ở chó đã được kiểm soát trở thành nguyên nhân gây ra bệnh dại ở người). Việc tiêm một hoặc nhiều dung dịch hỗn hợp RVC58 và RVC20 (nghĩa là hỗn hợp kháng thể RVC58 và RVC20 đẳng mol) sẽ cung cấp nồng độ cao các kháng thể trung hòa hệ thống (bao gồm hệ thần kinh trung ương CNS) và cản trở sự nhân lên của virut và sự tiến triển của bệnh. Việc phát triển nghiên cứu dung dịch hỗn hợp các kháng thể trung hòa tiềm năng và phổ phản ứng rộng giúp kéo dài thời gian điều trị sau phơi nhiễm đối với lây nhiễm RABV ở người, cái mà hiện nay đang bị giới hạn ở ngày đầu tiên sau lây nhiễm. Ở những người này, RV có thể đã tấn công đến các mô thần kinh trung ương (CSN) và các dấu hiệu sớm hoặc muộn của bệnh cũng đã xuất hiện. Những bệnh nhân này có thể hưởng lợi từ việc điều trị với các kháng thể trung hòa tiềm năng cái có thể đi qua hàng rào máu não (hoặc được cung cấp trực tiếp tới hệ thần kinh trung ương CNS) để cung cấp đủ lượng kháng thể có khả năng trung hòa hiệu quả sự nhân lên của virut trong các mô thần kinh trung ương.

Tiềm năng trị liệu của các kháng thể RVC58+RVC20 được đánh giá ở chuột đồng Xy-ri được thử thách với chủng RABV ở liều gây chết. Cụ thể là, RVC58+RVC20 được thử nghiệm ở chuột đồng Xy-ri thử thách trong cơ bụng chân ở chân sau với liều lượng gây chết của một trường virut được phân lập tử tuyến nước bọt của cáo nhiễm bệnh (Italy/red fox/ 673/2011). Ở các động vật bị lây nhiễm, phát hiện thấy RABV ở hệ thần kinh trung ương vào ngày thứ 5 sau thử nghiệm. Các động vật được điều trị với một liều 40 mg/kg RVC58+RVC20 vào ngày thứ nhất (n=12), vào ngày thứ 5 (n=12) hoặc vào ngày thứ 9 (n=7) sau khi lây nhiễm mà không đi đôi với cung cấp vacxin. Nhóm đối chứng cũng được nhận dung dịch muối đệm photphat (n=17) hoặc điều trị phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP tiêu chuẩn (20 mg/kg HRIG và vacxin; n=12). Các động vật được theo dõi hai lần mỗi ngày và giết chết nhân đạo nếu

xuất hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh dại. Đáng chú ý là, RVC58+RVC20 bảo vệ các động vật khỏi sự lây nhiễm với liều gây chết khi cung cấp sau tới 5 ngày lây nhiễm (Fig. 19). Lưu ý rằng, 3 trên 12 động vật được điều trị xuất hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh (bại liệt ở vị trí chân sau được thử thách), tuy nhiên các triệu chứng này không phát tiến triển thêm. Trong mô hình này, phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP cổ điển chỉ bảo vệ hơn một chút so với các động vật không được điều trị (Fig. 19). Không xuất hiện các dấu hiệu của bệnh ở những động vật sống sót sau tới 60 ngày lây nhiễm.

Ở tất cả các động vật đã chết và ở những con còn sống (cả những con đã chết vào ngày thứ 60) sự xuất hiện của virut dại RABV được phát hiện bằng cách định lượng ARN hệ gen và định lượng mARN virut mã hóa cho protein N trong tủy sống, hành não/tiểu não hoặc não bộ sử dụng phương pháp định lượng PCR thời gian thực. Lưu ý rằng, nồng độ có thể phát hiện của ARN virut được đo trong hệ thần kinh trung ương của động vật không có triệu chứng của bệnh được điều trị với RVC58+RVC20 vào ngày thứ 1 hoặc 5 sau lây nhiễm (mặc dù ở nồng độ thấp hơn 100-1000 lần so với các nồng độ đo được ở động vật đã chết) (Fig. 20), do đó chỉ ra rằng lây nhiễm RABV ban đầu không ngăn chặn tiến triển nhưng vẫn được kiểm soát trong hệ thần kinh trung ương bằng cách cung cấp các kháng thể trung hòa có hiệu quả cao và rất có thể là bởi đáp ứng miễn dịch nội sinh xảy ra đồng thời với virut.

Sự phát triển của phản ứng đáp ứng miễn dịch nội sinh mạnh mẽ cũng được xác nhận bằng cách đó nồng độ kháng thể IgG chuột đồng đặc hiệu với G-protein của RABV trong huyết thanh của tất cả các động vật (Fig. 20B). Lưu ý rằng, các động vật được nhận RVC58+RVC20 vào ngày thứ 5 (tất cả lây nhiễm với liều gây chết còn sống sót) đã phát triển nồng độ các kháng thể IgG đặc hiệu với G-protein cao ở mức tương đương với hoặc cao hơn so với nồng độ đo được ở động vật sống sót bởi vacxin trong nhóm PEP. Các nồng độ của các kháng thể này cũng tương đương hoặc cao hơn so với nồng độ đo được ở những động vật không thử thách được nhận PEP tiêu chuẩn (xem Fig. 18). Cuối cùng, liều lượng RVC58+RVC20 cao cũng có thể tương đương với tiêm chủng vacxin cùng lúc như đã nêu bằng cách phát hiện ra rằng việc sử dụng liệu lượng cao các kháng thể này không ảnh hưởng đáp ứng miễn dịch tới vacxin (Fig. 18A-B).

Các mẫu mô thu được từ não, hành não và tủy sống của động vật đối chứng hoặc động vật được nhận RVC58+RVC20 vào ngày thứ 5 (và chết vào ngày thứ 60) được phân tích sự xuất hiện của kháng nguyên N trên RABV bằng phương pháp hóa mô miễn dịch (IHC). Cụ thể là, phân tích IHC được tập trung phát hiện các thể Negri, là thể ưa eosin, có hình dáng rõ ràng, các thể vùi gây bệnh (đường kính 2–10 μm) được hình thành từ các khối nucleocapsit và được tìm thấy trong tế bào chất của nơron thần kinh chứa virut dại. Trong khi nhiều thể Negri được tìm thấy trong các mô thần kinh trung ương từ các động vật đối chứng dương tính, chỉ một số ít thể được phát hiện ở động vật được điều trị kháng thể vào ngày thứ 5 (Fig. 21). Những kết quả này xác nhận rằng RABV đã di chuyển đến hệ thần kinh trung ương và thậm chí là não, ở các động vật được điều trị với liều lượng RVC58+RVC20 cao mà không xuất hiện các triệu chứng.

Sự có mặt sớm của các kháng thể trung hòa ở bệnh nhân trong giai đoạn lâm sàng được xem là một yêu tố quan trong góp phần tạo ra kết quả khả quan. Điều này có thể xảy ra ở dưới 20% các bệnh nhân mắc bệnh dại. Việc có các kháng thể trung hòa RABV là một chỉ thị của một đáp ứng miễn dịch thích nghi chủ động, rất cần thiết đối với việc làm sạch virut (Lafon, M., in ''Rabies'', A. C. Jackson and W. H. Wunner, 3rd eds., pp. 489–504, Elsevier Academic Press, London, 2013). Đã có sáu người mắc bệnh dại sống sót, là những người được nhận vacxin trước khi sự tấn công của bệnh (và chỉ một người không nhận được vacxin). Điều này hỗ trợ cho quan điểm rằng đáp ứng miễn dịch sớm dẫn đến một kết quả khả quan. Cuối cùng, hầu hết những người mắc bệnh dại sống sót đều có kháng thể trung hòa RABV trong huyết thanh và dịch não tủy. Tiềm năng và độ rộng phản ứng của các kháng thể trung hòa RABV người trong sáng chế, ví dụ như kháng thể RVC20 và RVC58, tạo cơ hội để tạo miễn dịch thụ động ngay lập tức và mạnh mẽ, có thể đại diện cho (i) một tác nhân tiềm năng trong liệu pháp sau phơi nhiễm, cái mà có hiệu quả tại nồng độ thấp hơn nhiều so với HRIG và (ii) tác nhân trị liệu có hiệu lực đối với việc điều trị ở bệnh nhân có các chẩn đoán lâm sàng bệnh dại sớm. Liên quan đến vấn đề này, có thể nhận thấy rằng, việc bắt đầu liệu pháp điều trị ngay lập tức có thể mang lại cơ hội tốt nhất cho một kết quả tốt. Do đó, các kháng thể theo sáng chế, ví dụ như các kháng thể đơn dòng người RVC58 và RVC20, có thể đại diện cho một liệu pháp có hiệu quả sử dụng một mình hoặc kết hợp với vacxin bệnh dại, ribavirin (hoặc thuốc kháng virut khác), interferon-

anpha và ketamin.

Bảng các trình tự và SEQ ID

SEQ ID Số	Mô tả	Trình tự*
Kháng thể RVA122		
1	axit amin CDRH1	**gdsmnnfy**
2	axit amin CDRH2	**iyysgtt**
3	axit amin CDRH3	**ardsgdyvsyyyygmdv**
4	axit amin CDRL1	**ssnigsny**
5	axit amin CDRL2	**ksd**
6	Axit amin dài CDRL2	LIY**ksd**KRP
7	axit amin CDRL3	**aawdnrlsgwl**
8	nucleiotit CDRH1	**GGTGACTCCATGAATAATTTCTAC**
9	mucleiotit CDRH2	**ATCTATTACAGTGGGACCACC**
10	nucleiotit CDRH3	**GCGAGAGACTCCGGTGACTACGTCAGCTACTACTATTATGGTATGGACGTC**
11	nucleiotit CDRL1	**AGCTCCAACATCGGAAGTAATTAT**
12	nucleiotit CDRL2	**AAGAGTGAT**
13	Nucleotit dài CDRL2	cttatttac**AAGAGTGAT**aagcggccc
14	nucleiotit CDRL3	**GCAGCATGGGATAACAGGCTGAGTGGTTGGCTC**
15	axit amin chuỗi nặng	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**gdsmnnfy**WGWIRQPAGKGLEWIGY**iyysgtt**NYNPSLKSRVTISIDTSKNQFSLKVNSVTAA

		DTAVYY**Cardsgdyvsyyyygmdv**WGPGTTV TVSS
16	axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQSPSASDTPGQRVTISCSGS**ssnigs ny**VYWYQQFPGTAPKLLIY**ksdK**RPSGVP DRFSGSTSGTSASLAISGLRSEDEADYYC **aawdnrlsgwl**FGGGTKLTVL
17	nucleotit chuỗi nặng	caggtgcacctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcct tcggagaccctgtccctcacctgcactgtctct**GGTGAC TCCATGAATAATTTCTAC**tggggctggatcc ggcagcccgcagggaagggactggagtggattggatat**AT CTATTACAGTGGGACCACC**aactacaaccc ctccctcaagagtcgagtcaccatatcaatagacacgtccaag aaccaattctccctgaaggtgaactctgtgaccgctgcggaca cggccgtgtattattgt**GCGAGAGACTCCGGTG ACTACGTCAGCTACTACTATTATGGT ATGGACGTC**tggggcccagggaccacggtcaccgt ctcctcag
18	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtgctgactcagtcaccctcagcgtctgatacccccgg gcagagggtcaccatctcttgttctggaagc**AGCTCCA ACATCGGAAGTAATTAT**gtgtattggtaccag cagttcccaggaacggcccccaaactccttatttac**AAGA GTGAT**aagcggccctcaggggtccctgaccgattctctg gctccacgtctggcacctcagcctccctggccatcagtgggct ccggtccgaagatgaggctgattattactgt**GCAGCAT GGGATAACAGGCTGAGTGGTTGGCT C**ttcggcggagggacgaagctgaccgtcctag
Kháng thể RVA144		
19	axit amin CDRH1	**ggsisstify**
20	axit amin CDRH2	**vyynght**

21	axit amin CDRH3	**arpstydysigr**
22	Axit amin CDRL1	**ssnigagyd**
23	Axit amin CDRL2	**gnt**
24	Axit amin dài CDRL2	LIY**gnt**KRP
25	Axit amin CDRL3	**qsfdsslsawv**
26	Nucleiotit CDRH1	**GGTGGTTCCATCAGCAGTACTATTTTCTAC**
27	Nucleiotit CDRH2	**GTCTATTATAATGGACACACC**
28	Nucleiotit CDRH3	**GCGAGACCCTCAACATATGACTACAGTATTGGGCGC**
29	Nucleiotit CDRL1	**AGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGAT**
30	Nucleiotit CDRL2	**GGTAACACC**
31	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat**GGTAACACC**aagcggccc
32	Nucleiotit CDRL3	**CAGTCCTTTGACAGCAGCCTGAGTGCTTGGGTA**
33	axit amin chuỗi nặng	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**ggsisstify**WGWIRQPPGKGLEWIGS**vyynght**YYNPSLKSRVAISIDKSKNQFSLRLNSVTAADTAVYYC**arpstydysigr**WGQGTLVTVSS
34	axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQPPSVSRAPGQRVTISCTGS**ssnigagyd**VHWYQQLPGTAPKLLIY**gnt**KRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLLTEDEADYYC**qsfdsslsawv**FGGGTKLTVL

35	nucleotit chuỗi nặng	cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcc ctcggagaccctgtccctcacttgcactgtctct**GGTGGT TCCATCAGCAGTACTATTTTCTAC**tgg ggctggatccgccagcccccagggaagggactggagtggat tgggagt**GTCTATTATAATGGACACACC**t actacaatccgtccctcaagagtcgagtcgccatatccattgac aagtccaagaaccagttctccctgaggcttaactctgtgaccgc cgcggacacggctgtatattactgt**GCGAGACCCTC AACATATGACTACAGTATTGGGCGC**t ggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag
36	nucleotit chuỗi nhẹ	cagtccgtgctgacgcagccgccctcagtgtctcgggcccca gggcagagggtcaccatctcctgcactgggagc**AGCTC CAACATCGGGGCAGGTTATGAT**gtcca ctggtaccagcaacttccaggaacagcccccaaactcctcatct at**GGTAACACC**aagcggccctcaggggtccctgacc gattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatc actgggctcctgactgaggatgaggctgattattactgc**cAG TCCTTTGACAGCAGCCTGAGTGCTT GGGTA**ttcggcggagggaccaaactgaccgtcctgg
Kháng thể RVB185		
37	Axit amin CDRH1	**gapvsgvnsy**
38	Axit amin CDRH2	**ikysgst**
39	Axit amin CDRH3	**arqstmtgrdy**
40	Axit amin CDRL1	**rsnigshp**
41	Axit amin CDRL2	**gds**
42	Axit amin dài CDRL2	LIY**gds**QRP
43	Axit amin CDRL3	**aawddslsglwv**
44	Nucleiotit CDRH1	**GGTGCCCCCGTCAGTGGTGTTAACT**

		CCTAC
45	Nucleiotit CDRH2	**ATCAAGTACAGTGGGAGCACC**
46	Nucleiotit CDRH3	**GCCAGACAAAGTACTATGACGGGCC GGGACTAC**
47	Nucleiotit CDRL1	**AGATCCAACATCGGAAGCCATCCT**
48	Nucleiotit CDRL2	**GGTGATAGT**
49	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat**GGTGATAGT**cagcgaccc
50	Nucleiotit CDRL3	**GCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTG GCCTTTGGGTG**
51	axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVS**gapvs gvnsy**WVWIRQPPGKGLEWIATi**ky**sgstHR SPSLRSRVTISVDTSKNQFSLELSSVTAA DTAVYYC**arqstmtgrdy**WGQGTLVTVSS
52	axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGS**rsnigs hp**VNWYQQLPGAAPKLLIY**gds**QRPSGVP DRFSGSKSGPSASLAISGLQSEDEADYYC **aawddslsglwv**FGGGTKLTVL
53	nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcc ttcggagaccctgtccctcacctgcagtgtctcc**GGTGCC CCCGTCAGTGGTGTTAACTCCTAC**tgg gtgtggatccgccagcccccgggaaggggctggagtggatt gcgact**ATCAAGTACAGTGGGAGCACC**c accgtagcccgtcgctcaggagtcgagtcaccatatccgtaga cacgtccaagaatcagttctccctggagctgagctctgtgaccg ccgctgacacggctgtatattactgt**GCCAGACAAA GTACTATGACGGGCCGGGACTAC**tgg ggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

54	nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccg ggcagagggtcaccatctcttgttctggaagc**AGATCCA ACATCGGAAGCCATCCT**gtaaactggtacca gcagctcccgggagcggcccccaagctcctcatctat**GGT GATAGT**cagcgaccctcaggggtccctgaccgattctct ggctccaagtctggcccctcagcctccctggccatcagtggac tccagtctgaagatgaggctgattattactgt**GCAGCAT GGGATGACAGCCTGAGTGGCCTTTG GGTG**ttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaa
Kháng thể RVB492		
55	Axit amin CDRH1	**gfsfssya**
56	Axit amin CDRH2	**lnsidhrt**
57	Axit amin CDRH3	**argvglwfgelswnyfdy**
58	Axit amin CDRL1	**sndiggyny**
59	Axit amin CDRL2	**yvn**
60	Axit amin dài CDRL2	MIF**yvn**KRP
61	Axit amin CDRL3	**csfagsysl**
62	Nucleiotit CDRH1	**GGATTCAGCTTTAGCAGCTATGCC**
63	Nucleiotit CDRH2	**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**
64	Nucleiotit CDRH3	**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCG GTGAATTATCCTGGAATTACTTTGAC TAC**
65	Nucleiotit CDRL1	**AGCAATGATATTGGTGGTTATAACT AT**
66	Nucleiotit CDRL2	**TATGTCAAT**
67	Nucleotit dài	atgattttt**TATGTCAAT**aagcggccc

	CDRL2	
68	Nucleiotit CDRL3	**TGCTCATTTGCAGGCAGTTACTCCTTA**
69	axit amin vùng biến thể 1 chuỗi nặng	EVQLMESGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVS**Slnsidhrt**DYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMDSLRVEDSAMYYC**argvglwfgelswnyfdy**WGQGTLVTVSS
70	axit amin vùng biến thể 2 chuỗi nặng	EVQLVQSGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVS**Slnsidhrt**DYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMDSLRVEDSAMYYC**argvglwfgelswnyfdy**WGQGTLVTVSS
71	axit amin chuỗi nhẹ	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGT**sndiggyny**VSWYQQHPGKAPKLMI**Fyvn**KRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC**csfagsysl**FGRGTKLTVL
72	nucleotit vùng biến thể 1 chuỗi nặng	gaggtgcagctgatggagtctgggggaggcctggtacagccgggggggtccatgagactctactgtgcagcctct**GGATTCAGCTTTAGCAGCTATGCC**atgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctcgagtgggtctcaagt**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**gactatgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatttacaaatggacagcctgagagtcgaggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCGGTGAATTATCCTGGAATTACTTTGACTAC**tggggccagggaacccctggtcaccgtctcctcag
73	nucleotit vùng biến thể 2 chuỗi nặng	gaggtgcagctggtgcagtctgggggaggcctggtacagccgggggggtccatgagactctactgtgcagcctct**GGATT**

		CAGCTTTAGCAGCTATGCCatgagctgggt ccgccaggctccagggaaggggctcgagtgggtctcaagt**C TTAATTCTATTGATCATAGAACA**gacta tgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaat tccaagaacaccctgtatttacaaatggacagcctgagagtcga ggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTG GGACTATGGTTCGGTGAATTATCCT GGAATTACTTTGACTAC**tggggccagggaac cctggtcaccgtctcctcag
74	nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgccctgactcagcctcgctcagtgtccgggtctcctgg acagtcagtcaccatctcctgcactggaacc**AGCAATG ATATTGGTGGTTATAACTAT**gtctcctggt accaacaacacccaggcaaagcccccaaactcatgattttT **ATGTCAAT**aagcggccctcaggggtccctgatcgcttc tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgg gctccaggctgaggatgaagctgattattactgc**TGCTCA TTTGCAGGCAGTTACTCCTTA**ttcggcag agggaccaagctgaccgtcctag
Kháng thể RVC3		
75	Axit amin CDRH1	**tftfrnya**
76	Axit amin CDRH2	**isasgsst**
77	Axit amin CDRH3	**akfahdfwsgysyfds**
78	Axit amin CDRL1	**qsvnsn**
79	Axit amin CDRL2	**gas**
80	Axit amin dài CDRL2	LIY**gas**TRA
81	Axit amin CDRL3	**qqynnwvsit**
82	Nucleiotit CDRH1	**ACATTCACGTTTAGAAACTATGCC**

83	Nucleiotit CDRH2	**ATTAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG**
84	Nucleiotit CDRH3	**GCGAAATTTGCTCACGATTTTTGGAGTGGTTATTCTTACTTTGACTCC**
85	Nucleiotit CDRL1	**CAGAGTGTTAACAGCAAC**
86	Nucleiotit CDRL2	**GGTGCATCC**
87	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat**GGTGCATCC**accagggcc
88	Nucleiotit CDRL3	**CAGCAGTATAATAATTGGGTTTCGATCACC**
89	axit amin chuỗi nặng	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**tftfrnya**MSWVRQAPGKGLDWVS**Gisasgsst**NYAASLKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**akfahdfwsgysyfds**WGQGTLVTVSS
90	axit amin chuỗi nhẹ	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAG**qsvnsn**LAWYQQKPGQAPRLLIY**gas**TRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC**qqynnwvsit**FGQGTRLEIK
91	nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctgttggagtctgggggaggcctggtgcagccgggggggtccctgagactctcctgtgcagcctct**ACATTCACGTTTAGAAACTATGCC**atgtcctgggtccgccaggctccagggaaggggctggactgggtctcagggg**ATTAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG**aattatgcagcctccctgaagggccgatttaccatctccagagacaattccaagaacacattgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtctattactgt**GCGAAATTTGCTCACGATTTTTGGAGTGGTTATTCTTACTTTGACTCC**tggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

92	nucleotit chuỗi nhẹ	gaaatagtgatgacgcagtctccagccaccctgtctgtgtctcc aggggaaagagccaccctctcctgcagggccggt**CAGA GTGTTAACAGCAAC**ttagcctggtaccagcaga aacctgggcaggctcccagactcctcatctat**GGTGCAT CC**accagggccactggtatcccagccaggttcagtggcagt gggtctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgcagt ctgaagattttgcagtttattactgt**CAGCAGTATAAT AATTGGGTTTCGATCACC**ttcggccaaggg acacgactggagattaaac
Kháng thể RVC20		
93	Axit amin CDRH1	**ggsfssgsys**
94	Axit amin CDRH2	**iyysgst**
95	Axit amin CDRH3	**argtysdfwsgspldy**
96	Axit amin CDRL1	**qgisny**
97	Axit amin CDRL2	**aas**
98	Axit amin dài CDRL2	LIY**aas**SLQ
99	Axit amin CDRL3	**qqydtyplt**
100	Nucleiotit CDRH1	**GGTGGCTCCTTCAGCAGTGGAAGTT ACTCC**
101	Nucleiotit CDRH2	**ATCTATTACAGTGGGAGCACT**
102	Nucleiotit CDRH3	**GCGAGAGGCACGTATTCCGATTTTT GGAGTGGTTCCCCTTTAGACTAC**
103	Nucleiotit CDRL1	**CAGGGCATTAGCAATTAT**
104	Nucleiotit CDRL2	**GCTGCATCC**
105	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat**GCTGCATCC**agtttgcaa

106	Nucleiotit CDRL3	**CAACAGTATGATACTTACCCTCTCAC T**
107	axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS**ggsfs sgsys**WNWIRQHPGKGLEWIGY**iyysgst**YY NPSLKSRVTMSVHTSKNQFSLKLNSITA ADTAVYYC**argtysdfwsgspldy**WGQGTLV TVSS
108	axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qgis ny**LAWFQQKPGKAPKSLIY**aas**SLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFVTYFC **qqydtypl**tFGGGTKVEIK
109	nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcc ttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctcc**GGTGGC TCCTTCAGCAGTGGAAGTTACTCC**tgg aactggatccgccagcacccagggaagggcctggagtggatt gggtac**ATCTATTACAGTGGGAGCACT**ta ttacaacccgtccctcaagagtcgagttaccatgtcagtacaca cgtctaagaaccagttctccctgaagctgaactctataactgcc gcggacacggccgtgtattactgt**GCGAGAGGCAC GTATTCCGATTTTTGGAGTGGTTCC CCTTTAGACTAC**tggggccagggaaccctggtca ccgtctcctcag
110	nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgacccagtctccatcctcactgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgtcgggcgagt**CAGGG CATTAGCAATTAT**ttagcctggtttcagcagaaac cagggaaagcccctaagtccctgatctat**GCTGCATC C**agtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtgg atctgggacagatttcactctcaccatcaacagcctgcagcctg aagattttgtaacttatttctgc**CAACAGTATGATA CTTACCCTCTCACT**ttcggcggagggaccaagg

		tggagatcaaac
Kháng thể RVC21		
111	Axit amin CDRH1	**ggsisnpnyy**
112	Axit amin CDRH2	**iyyngyt**
113	Axit amin CDRH3	**atqstmttiaghy**
114	Axit amin CDRL1	**tsnignsy**
115	Axit amin CDRL2	**dnn**
116	Axit amin dài CDRL2	LIY**dnn**KRP
117	Axit amin CDRL3	**gtwdsslnayv**
118	Nucleiotit CDRH1	**GGTGGCTCCATCAGCAACCCTAACTACTAC**
119	Nucleiotit CDRH2	**ATCTATTATAATGGGTACACC**
120	Nucleiotit CDRH3	**GCGACGCAATCTACGATGACTACCATAGCGGGCCACTAC**
121	Nucleiotit CDRL1	**ACATCCAACATTGGGAATTCTTAT**
122	Nucleiotit CDRL2	**GACAATAAT**
123	Nucleotit dài CDRL2	ctcatttat**GACAATAAT**aagcgaccc
124	Nucleiotit CDRL3	**GGAACATGGGACAGCAGCCTGAATGCTTATGTC**
125	axit amin chuỗi nặng	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**ggsisnpnyy**WGWIRQPPGKGLEWIGS**iyyngyt**YYNPSLKSRVTISVDKSKDQFFLKMTSLTAADTAVYYC**atqstmttiaghy**WGQGTLVTVSS
126	axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQAPSVSAAPGLKVTISCSGS**tsnign**

		syVSWYQQLPGTAPKLLIY**dnn**KRPSGIP DRFSGSKS**D**TSATLGITGLQTGDEADYY C**gtwdssln**ayv**FGTGTKVTVL
127	nucleotit chuỗi nặng	cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcct tcggagaccctgtccctcacgtgcactgtctct**GGTGGC TCCATCAGCAACCCTAACTACTAC**tgg ggctggatccgccagcccccagggaagggtctggaatggatt gggagt**ATCTATTATAATGGGTACACC**ta ctacaacccgtccctcaagagtcgagttaccatatccgtggaca agtccaaggaccagttctttctgaagatgacctctctgaccgcc gcagacacggctgtgtattactgt**GCGACGCAATC TACGATGACTACCATAGCGGGCCAC TAC**tggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag
128	nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtattgacgcaggcgccctcagtgtctgcggccccag gactaaaggtcaccatctcctgctctggaagc**ACATCCA ACATTGGGAATTCTTAT**gtatcctggtaccag cagctcccaggaacagcccccaaactcctcatttat**GACA ATAAT**aagcgaccctcagggattcctgaccgattctctgg ctccaagtctgacacgtcagccaccctgggcatcaccggactc cagactggggacgaggccgattattactgc**GGAACAT GGGACAGCAGCCTGAATGCTTATGT C**ttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctag
Kháng thể RVC38		
129	Axit amin CDRH1	**ggtfssya**
130	Axit amin CDRH2	**impmfvaa**
131	Axit amin CDRH3	**argdgynykwyfdl**
132	Axit amin CDRL1	**qdisny**
133	Axit amin CDRL2	**aas**
134	Axit amin dài	LIY**aas**TLQ

	CDRL2	
135	Axit amin CDRL3	**qqldtyvalt**
136	Nucleiotit CDRH1	**ggaggcaccttcagcagctatgcc**
137	Nucleiotit CDRH2	**atcatgcctatgtttgtggcggca**
138	Nucleiotit CDRH3	**gcgagaggggatggctacaattacaagtggtattttgacctt**
139	Nucleiotit CDRL1	**caggacattagtaattat**
140	Nucleiotit CDRL2	**gctgcatcc**
141	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat**gctgcatcc**actttgcaa
142	Nucleiotit CDRL3	**caacagcttgatacttacgtcgcgctcact**
143	axit amin chuỗi nặng	EVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKAS**ggtf ssya**ISWVRQAPGLGLEWMGG**impmfvaa** NYAQNFQGRVTVSVDKSTNTAYMEMH NLRSDDTAMYYC**argdgynykwyfdl**WGQG TLVTVSS
144	axit amin chuỗi nhẹ	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRAS**qdisn y**LAWYQQKPGKPPKLLIY**aas**TLQRGVPS RFSGSGSGSEFTLTISSLQPEDFATYYC**qq ldtyvalt**FGGGTKVEIK
145	nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcct gggtcctcggtgagggtctcctgcaaggcttct**ggaggcacct tcagcagctatgcc**atcagctgggtgcgacaggcccctggg ctagggcttgagtggatgggaggg**atcatgcctatgtttgtgg cggca**aactacgcacagaacttccagggcagagtcacggttt ctgtggacaaatccacgaacaccgcctatatggagatgcacaa cctgagatctgacgacacggccatgtattactgt**gcgagaggg gatggctacaattacaagtggtattttgacctt**tggggccag

		ggaaccctagtcaccgtctcctcag
146	nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagttgacccagtctccatccttcctgtctgcatctgtag gagacagagtcaccatcacttgccgggccagt**caggacatta gtaattat**ttagcctggtatcagcaaaaaccagggaagccccc taaactcctgatctat**gctgcatcc**actttgcaaagggggtcc catcaaggttcagtggcagtggatctgggtcagaattcactctc acaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgt **caacagcttgatacttacgtcgcgctcact**ttcggcggaggg accaaggtggagatcaaac
Kháng thể RVC44		
147	Axit amin CDRH1	**gftfssys**
148	Axit amin CDRH2	**isttgtyi**
149	Axit amin CDRH3	**arrsaialagtqrafdi**
150	Axit amin CDRL1	**qninny**
151	Axit amin CDRL2	**aas**
152	Axit amin dài CDRL2	LIY**aas**SLH
153	Axit amin CDRL3	**qqsysnpwt**
154	Nucleiotit CDRH1	**GGCTTCACCTTTAGTAGTTATAGT**
155	Nucleiotit CDRH2	**ATCAGTACTACTGGTACTTACATA**
156	Nucleiotit CDRH3	**GCGAGACGGTCGGCCATAGCACTGG CTGGTACGCAGCGTGCTTTTGATAT C**
157	Nucleiotit CDRL1	**CAGAACATTAACAACTAT**
158	Nucleiotit CDRL2	**GCTGCATCC**
159	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat**GCTGCATCC**agtttacat

160	Nucleiotit CDRL3	**caacagagttacagtaacccttggacg**
161	axit amin chuỗi nặng	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAAS**gftfs sys**MSWVRQAPGKGLEWVSS**isttgtyi**YYA DSVEGRFSISRDSARSSLFLQMNSLRAED TAVYYC**arrsaialagtqrafdi**WGPGTNVIVS S
162	axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qnin ny**LNWYQQKLGKAPKLLIY**aas**SLHSGVP SRFSASGSGTDFILTISNLQPEDCATYYC **qqsysnpwt**FGQGTKVEIK
163	nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctggtgcagtctgggggaggcctggtcaagcct gggggtccctgagactctcctgtgcagcctct**GGCTTC ACCTTTAGTAGTTATAGT**atgagttgggtcc gccaggctccagggaagggcctggagtgggtctcatcc**AT CAGTACTACTGGTACTTACATA**tactacg cagactcagtggagggccgattctccatttccagagacagcgc caggagctctctgtttctgcaaatgaacagcctgagagccgag gacacggctgtctattactgt**GCGAGACGGTCGG CCATAGCACTGGCTGGTACGCAGCG TGCTTTTGATATC**tggggcccagggacaaacgtc atcgtctcttcag
164	nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgacccagtctccatcttccctgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagt**CAGAA CATTAACAACTAT**ttaaattggtatcagcagaaact agggaaagcccctaagctcctgatctat**GCTGCATCC** agtttacatagtggggtcccatcaaggttcagtgccagtggatct gggacagatttcattctgaccatcagtaatctgcaacctgaagat tgtgcaacttactactgt**caacagagttacagtaacccttgga cg**ttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaac
RVC58 ANTIBODY		

165	Axit amin CDRH1	**gftfstya**
166	Axit amin CDRH2	**isdrggsr**
167	Axit amin CDRH3	**ardiappynyyfygmdv**
168	Axit amin CDRL1	**ssdigafny**
169	Axit amin CDRL2	**evs**
170	Axit amin dài CDRL2	IIY**evs**NRP
171	Axit amin CDRL3	**nsytssstql**
172	Nucleiotit CDRH1	**GGATTCACCTTTAGCACCTATGCC**
173	Nucleiotit CDRH2	**ATTAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA**
174	Nucleiotit CDRH3	**GCGAGAGATATTGCCCCCCCATATAACTACTACTTCTACGGTATGGACGTC**
175	Nucleiotit CDRL1	**AGCAGTGACATTGGTGCTTTTAACTAT**
176	Nucleiotit CDRL2	**GAGGTCAGT**
177	Nucleotit dài CDRL2	ataatttat**GAGGTCAGT**aatcggccc
178	Nucleiotit CDRL3	**AACTCATATACAAGCAGCAGCACTCAGTTA**
179	axit amin chuỗi nặng	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**gftfstya**MNWVRQAPGKGLEWVSG**isdrggsr**YYAGSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYC**ardiappynyyfygmdv**WGRGTTVTVSS
180	axit amin chuỗi nhẹ	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT**ssdigafny**VSWYQQHPGKAPKLIIY**evs**NRPSGVS

		NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYY C**n**sytsss**tq**lFGGGTKLTVL
181	nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtacagcct gggggtccctgagactctcctgtgcggcctct**GGATTC ACCTTTAGCACCTATGCC**atgaattgggtcc gccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcaggt**AT TAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA**tactac gcaggctccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaatt ccaagaacacgctgtttctgcaaatgaacagcctgagagccga ggacacggccgtatattactgt**GCGAGAGATATT GCCCCCCCATATAACTACTACTTCTA CGGTATGGACGTC**tggggccgagggaccacgg tcaccgtctcctcag
182	nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctgg acagtcgatcaccatctcctgcactggtacc**AGCAGTG ACATTGGTGCTTTTAACTAT**gtctcttggta ccaacagcacccaggcaaagcccccaaactcataatttat**GA GGTCAGT**aatcggccctcaggggtttctaatcgcttctct ggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggc tccaggctgaggacgaggctgattattactgc**AACTCAT ATACAAGCAGCAGCACTCAGTTA**ttcg gcggagggaccaagctgaccgtcctag
RVC68 ANTIBODY		
183	Axit amin CDRH1	**ggsis<u>ehh</u>**
184	Axit amin CDRH2	**if<u>h</u>sgst**
185	Axit amin CDRH3	**aravs<u>t</u>yyyyy<u>i</u>dv**
186	Axit amin CDRL1	**q<u>d</u>is<u>n</u>w**
187	Axit amin CDRL2	**aas**
188	Axit amin dài	LIY**aas**SLQ

	CDRL2	
189	Axit amin CDRL3	**qqaksfplt**
190	Nucleiotit CDRH1	**GGTGGCTCCATTAGTGAGCACCAC**
191	Nucleiotit CDRH2	**ATCTTTCACAGTGGGAGTACC**
192	Nucleiotit CDRH3	**GCGAGAGCGGTGTCTACTTACTACT ACTATTACATAGACGTC**
193	Nucleiotit CDRL1	**CAGGATATTAGCAACTGG**
194	Nucleiotit CDRL2	**GCTGCGTCC**
195	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat**GCTGCGTCC**agtttgcaa
196	Nucleiotit CDRL3	**CAACAGGCTAAGAGTTTCCCTCTTA CT**
197	axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPRLVKPSETLSLTCTFS**ggsise hh**WSWLRQSPGKGLEWIGY**ifhsgst**NYNP SLKSRVNISLDKSKNQFSLKLSSVTAADT AVYFC**aravstyyyyyidv**WGQGTTVTVSS
198	axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS**qdis nw**LAWYQQKPGKAPKLLIY**aas**SLQSGIS SRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFASYYC **qqaksfplt**FGQGTKLEIK
199	nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctacaggagtcgggcccaagactggtgaagcc ctcggagaccctgtccctcacctgcactttctct**GGTGGC TCCATTAGTGAGCACCAC**tggagctggctcc ggcagtccccagggaagggactggagtggattggatat**AT CTTTCACAGTGGGAGTACC**aactacaaccc ctccctcaagagtcgagtcaacatatcattagacaagtccaaga accagttctccctgaagctgagttctgtgaccgctgcggacacg gccgtgtatttctgt**GCGAGAGCGGTGTCTAC TTACTACTACTATTACATAGACGTC**tg

		gggccaagggaccacggtcaccgtctcctcag
200	nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgacccagtctccatcttccgtgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcacttgtcgggcgagt**CAGGA TATTAGCAACTGG**ttagcctggtatcagcagaaac cagggaaagcccctaaactcctgatctat**GCTGCGTC C**agtttgcaaagtgggatctcatctaggttcagcggcggtggc tctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctga agattttgcaagttactactgt**CAACAGGCTAAGA GTTTCCCTCTTACT**tttggccaggggaccaagct ggagatcaaac
Kháng thể RVC111		
201	Axit amin CDRH1	**GFSFSSYV**
202	Axit amin CDRH2	**ISYDGSNK**
203	Axit amin CDRH3	**ARGSGTQTPLFDY**
204	Axit amin CDRL1	**QSITSW**
205	Axit amin CDRL2	**DDS**
206	Axit amin dài CDRL2	LIY**DDS**TLE
207	Axit amin CDRL3	**QQYESYSGT**
208	Nucleiotit CDRH1	**ggattctccttcagtagctatgtt**
209	Nucleiotit CDRH2	**atatcatatgatggaagtaataaa**
210	Nucleiotit CDRH3	**gcgagagggtccggaacccaaactcccctctttgactac**
211	Nucleiotit CDRL1	**cagagtattactagctgg**
212	Nucleiotit CDRL2	**gatgactcc**
213	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat**gatgactcc**actttggaa
214	Nucleiotit CDRL3	**caacagtatgagagttattcagggacg**

215	axit amin chuỗi nặng	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GF** **S**FSSY**V**MYWVRQAPGKGLEWV**TI**ISYD GSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC**ARGSGTQTPLF** **DY**WGQGTLVTVSS
216	axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRA**N**QSI **T**SW**V**AWYQQ**M**PG**R**APKLLIY**DD**ST**L**ES GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAT YYC**QQY**E**S**YSGTFGQGTKVEIK
217	nucleotit chuỗi nặng	caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcct gggaggtccctgagactctcctgtgcagcctct**ggattctcctt** **cagtagctatgtt**atgtactgggtccgccaggctccaggcaa ggggctggagtgggtgacaatt**atatcatatgatggaagtaa** **taaa**tactacgcagactccgtgaagggccgattcaccatctcc agagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcc tgagagctgaggacacggctgtctattactgt**gcgagagggtc** **cggaacccaaactcccctctttgactac**tggggccagggaa ccctggtcaccgtctcctcag
218	nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtg ggagacagagtcaccatcacttgccgggccaat**cagagtatt** **actagctgg**gtggcctggtatcagcagatgccagggagagc ccctaaactcctgatctat**gatgactcc**actttggaaagtgggg tcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagaattcact ctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattact gc**caacagtatgagagttattcagggacg**ttcggccaaggg accaaggtggaaatcaaac

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được phân lập, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

2. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, miễn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

3. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, miễn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

4. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95% với trình tự axit amin nêu trong SEQ

ID NO: 180, miễn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

5. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 99% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 99% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180, miễn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

6. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, khác biệt ở chỗ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

7. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV CVS-11 có giá trị IC_{90} là 400 ng/ml hoặc thấp hơn.

8. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180.

9. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là theo gRVC58.

10. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 9, trong đó kháng

thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là RVC58.

11. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là kháng thể người, kháng thể đơn dòng, kháng thể đơn dòng người, kháng thể được tinh sạch, kháng thể chuỗi đơn, Fab, Fab', F(ab')2, Fv hoặc scFv.

12. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% tất cả các chủng lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm bao gồm of ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh/BBLV, 86132SA/DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK, Virut dơi Shimoni /SHIV, Virut dơi Cap-ca phương Tây /WCBV, Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut /IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut dơi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut dơi Lagos SA2004/LBV, virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và Lyssavirut Ikoma /IKOV có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh/BBLV, 86132SA/DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK được thử nghiệm như các virut lây nhiễm và có giá trị IC_{90} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với Virut dơi Shimoni/SHIV, Virut dơi Cap-ca phương Tây /WCBV, Lyssavirut dơi

Australia /RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut dơi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut dơi Lagos SA2004/LBV, Virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và Lyssavirut Ikoma/IKOV được thử nghiệm như là các virut dạng giả.

13. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

14. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirut gây ra bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirut không phải RABV nhóm I được chọn từ nhóm bao gồm ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh/BBLV, 86132SA/DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV 1b/Pháp/dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, Virut Aravan /ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2 và Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Australia/dơi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 Lyssavirut dơi Bokeloh/BBLV, 86132SA/DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/dơi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-

2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2 và 02053/EBLV-2, được thử nghiệm như virut lây nhiễm và với giá trị IC_{90} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với Lyssavirut dơi Australia/RV634/ABLV, Virut Aravan /ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, Lyssavirut dơi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/dơi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/UK/dơi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, Lyssavirut dơi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV và Virut Khujand Virus/KHUV được thử nghiệm như là các virut dạng giả.

15. Kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm gây ra bởi EBLV-1.

16. Dược phẩm chứa kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo điểm 1, và tá dược dược dụng, chất pha loãng hoặc chất mang.

17. Dược phẩm theo điểm 16 chứa ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, và kháng thể/các kháng thể còn lại, hoặc (các) mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, chứa (i) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (iii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iv) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (v) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi

nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và 61 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (vi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (viii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 129-133 và 135 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 129-132 và 134-135; (ix) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 147-151 và 153 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 147-150 và 152-153; (x) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; và/hoặc (xi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207,

trong đó ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, liên kết đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein G của RABV, tốt hơn nếu trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV.

18. Dược phẩm theo điểm 17, trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99, và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171 .

19. Kit nhiều thành phần bao gồm ít nhất hai kháng thể khác nhau, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, trung hòa lây nhiễm lyssavirut, trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, và kháng thể/các kháng thể còn lại, hoặc (các) mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, liên kết đặc hiệu với quyết định kháng nguyên khác trên glycoprotein G của RABV.

20. Kit nhiều thành phần theo điểm 19, trong đó kit chứa ít nhất hai kháng thể khác nhau, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, và kháng thể/các kháng thể còn lại, hoặc (các) mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, chứa (i) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (iii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iv) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (v) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và 61 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (vi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (viii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1,

CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 129-133 và 135 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 129-132 và 134-135; (ix) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 147-151 và 153 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 147-150 và 152-153; (x) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; và/hoặc (xi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207,

trong đó các kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, liên kết đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein của RABV, tốt hơn nếu trong đó một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV.

21. Kit nhiều thành phần theo điểm 19 hoặc 20, trong đó ít nhất một kháng thể trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99, và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể chứa trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loài virut	Nhóm	Giống	Số đăng ký
9704	Tadarida brasiliensis (Mexican free-tailed bat)	Argentina	1997	RABV	I	Bat (American Indigenous)	
Botswana/dog/BNVL2009-3580/V5493-2010	Canis familiaris (dog)	Botswana	2009	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	
Botswana/honey badger/BNVL2009-6665/V5493-2010	Mellivora capensis (honey badger)	Botswana	2009	RABV	I	Africa 3	
Burkina Faso/dog/139-2007/V6155-2007	Canis familiaris (dog)	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	
Burkina Faso/dog/9-2007/V6155-2007	Canis familiaris (dog)	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	
2045	Canis familiaris (dog)	China	2002	RABV	I	Asian 1 or 2a (China)	
France/red fox/GS7 1-11-1990/V1039-2011	Vulpes vulpes (red fox)	France	1990	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	
Pasteur Virus (PV)-Paris-93127	na	France	na	RABV	I	na	
9001	Canis familiaris (from vampire bat virus)	French Guyana	1990	RABV	I	Bat (American Indigenous)	
Italy/dog/V3425/2009	Canis familiaris (dog)	Italy	2009	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	
Italy/human/V117/1996 (Nepal)	Homo sapiens	Italy	1996	RABV	I	Arctic-like-1	
Italy/red fox/V673/2011	Vulpes vulpes (red fox)	Italy	2011	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	
Brazil/bat/260-08/RS1249-2013	Bat/Mus musculus*	Brazil	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	
Brazil/bovine/303-2011/RS1040-2012	Bos taurus (cows)	Brazil	2011	RABV	I	Bat (American indigenous)	
Brazil/kinkajou/RS3609-5-2011	Potos flavus (kinkajou)	Brazil	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	
Challenge virus strain (CVS)-11	na	Lab strain	na	RABV	I	na	EU352767
9508SAD BERN	na	Lab strain	na	RABV	I	na	
Niger/Dog/105-251-2007/V6097-2007	Canis familiaris (dog)	Niger	2007	RABV	I	Africa 2	
4030	Homo sapiens	Phillipines	2004	RABV	I	Asian 2b (Philippines)	
Poland/racoon dog/1985/V3229-2009	Nyctereutes procyonoides (racoon dog)	Poland	1985	RABV	I	Cosmopolitan, North-Eastern Europe	
9141	Vulpes lagopus (arctic fox)	Siberia, Russia	1988	RABV	I	Arctic 2 (Siberia)	
Spain/dog/201020958-2010/RS639-2012	Canis familiaris (dog)	Spain (ex Morocco)	2010	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	
8743	Homo sapiens	Thailand	1983	RABV	I	Asian 2c (south East Asia)	
Tunisia/dog/ARIANA2-1991/V3951-2010	Canis familiaris (dog)	Tunisia	1991	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	
ERA (Evelyn Rokitniki Abelseth)	na	na	na	RABV	I	na	
CVS 9.13		Lab strain		RABV	I	na	
RV250	Urocitellus undulatus (long-tailed ground squirrel)	Russia (Tuva)		RABV	I	Arctic-like	
RV193	Canis familiaris (dog)	Pakistan	1989	RABV	I	Arctic-like	
RV277	Capra aegagrus hircus (goat)	Pakistan		RABV	I	Arctic-like	
RV61	Canis familiaris (dog)	India	1987	RABV	I	Arctic-like	
93033ISR	Canis familiaris (dog)	Israel	1993	RABV	I	Cosmopolitan, Middle East	
86081IRA	Canis familiaris (dog)	Iran	1985	RABV	I	Cosmopolitan, Middle East	
91004USA	Mephitis mephitis (skunk)	USA	1991	RABV	I	Arctic related, arctic 1	
Mauritania/dog/2019-2006/V6235-2007	Canis familiaris (dog)	Mauritania	2007	RABV	I	Africa 2	
Pittman More strain (PM) (PV12?)	Canis familiaris (dog)	USA? (lab strain)	na	RABV	I	na	

Fig. 1

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loài virut	Nhóm	Giống	Số đăng ký
87006TU	Vulpes vulpes (fox)	Turkey	1987	RABV	I	Cosmopolitan, America	
91001USA	Mephitis mephitis (skunk)	USA	1991	RABV	I	Cosmopolitan, America	
91035OMA	Vulpes vulpes (fox)	Oman	1991	RABV	I	Arctic related, arctic like 1b	
98011CHI	Canis familiaris (dog)	Chile	1998	RABV	I	Asia, China, Clade II	
09029NEP	Bubalus arnee (wild water buffalo)	Nepal	2003	RABV	I	Indian subcontinent	
02052AFG	Canis familiaris (dog)	Afghanistan	2002	RABV	I	Cosmopolitan, Middle East	
FLRC090148	Nyctereutes procyonoides (racoon dog)	USA	2009	RABV	I	Cosmopolitan, America	AGE31951
RV/R3.PHL/2008/TRa-065	Canis familiaris (dog)	Phillipines	2008	RABV	I	Asian 2b (Philippines)	BAN14123
ABLV/Australia/bat/9810AUS-1998/V1039-2011	Pteropus alecto (Black flying fox)	Australia	1996	ABLV	I		NA
98010	Saccolaimus flaviventris (Insectivorous bat)	Australia	1996	ABLV	I		AAD47899.1
1301 Bokeloh bat lyssavirus	Myotis nattererii (Natterer's bat)	France	2013	BBLV	I		NA
86132SA	Homo sapiens	South Africa	1971	DUVV	I		NA
DUVV/SouthAfrica/human/96132SA-1971/RS639-2012	Homo sapiens	South Africa	?	DUVV	I		NA
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009	Eptesicus serotinus (serotine bat)	France	2002	EBLV-1	I		NA
EBLV1b/France/bat/8918-1989	Eptesicus serotinus (serotine bat)	France	1989	EBLV-1	I		EU293112
EBLV2/UK/bat/RV1332-2002/V3951-2009	Myotis daubentonii (Daubenton's bat)	UK	2002	EBLV-2	I		NA
94112	Myotis dasycneme (pond bat)	Netheralnds	1989	EBLV-2	I		NA
2053	Myotis daubentonii (Daubenton's bat)	Switzerland	2002	EBLV-2	I		NA
8619	Eidolon helvum (straw-coloured fruit bat)	Nigeria	1956	LBV	II		NA
MOK	Felis catus (domestic cat)	Zimbabwe	1981	MOK	II		NA
Shimoni bat Virus	Hipposideros commersoni (leaf-nosed bat)	Kenya	2009	SHIBV	II		NA
West Caucasian bat Virus	Miniopterus schreibersi (common bent-wing bat)	Russia	2002	WCBV	III		NA
Australian bat lyssavirus/RV634	Pteropus alecto (black flying fox)	Australia	1996	ABLV	I		NA
Aravan Virus	Myotis blythi (Lesser mouse-eared bat)	Kyrgyzstan	1991	ARAV	I		AAP86775.1
Duvenhage Virus RSA2006	Homo sapiens	South Africa	2006	DUVV	I		EU623444
Duvenhage Virus ZIM86-RV131	Nycteris thebaica (Egyptian slit-faced bat)	Zimbawe	1986	DUVV	I		NA
European bat lyssavirus 1.RV20	Eptesicus serotinus (serotine bat)	Denmark	1986	EBLV-1	I		NA
European bat lyssavirus 1.RV9	Eptesicus serotinus (serotine bat)	Germany	1968	EBLV-1	I		EU352768
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009	Eptesicus serotinus (serotine bat)	France	2002	EBLV-1	I		NA
EBLV2/UK/bat/RV1332-2002/V3951-2009*	Myotis daubentonii (Daubenton's bat)	UK	2002	EBLV-2	I		NA
European bat lyssavirus 2.RV1787	Myotis daubentonii (Daubenton's bat)	UK	2004	EBLV-2	I		EU352769
European bat lyssavirus 2.RV628	Myotis daubentonii (Daubenton's bat)	UK	1996	EBLV-2	I		NA
Irkut Virus	Murina leucogaster (greater tube-nosed bat)	Russia	2002	IRKV	I		NA
Khujand Virus	Myotis mystacinus (whiskered bat)	Tajikistan	2001	KHUV	I		AAP86779.1
8619	Eidolon helvum (straw-coloured fruit bat)	Nigeria	1956	LBV	II		NA
Lagos Bat Virus NIG56-RV1	Eidolon helvum (straw-coloured fruit bat)	Nigeria	1956	LBV	II		EF547431
Lagos Bat Virus SA2004	omophorus wahlbergi (Wahlberg's epauletted fruit b	South Africa	2004	LBV	II		EF547428
Mokola Virus NIG68.RV4	Crocidura sp. (white-toothed shrews)	Nigeria	1968	MOK	II		HM623780
Mokola Virus 98/071 RA361	Felis catus (domestic cat)	South Africa	1998	MOK	II		GQ500108
Ikoma virus	Civettictis civetta (African civet)	Tanzania	2009	IKOV	IV		AFQ62097

Fig. 1 (tiếp)

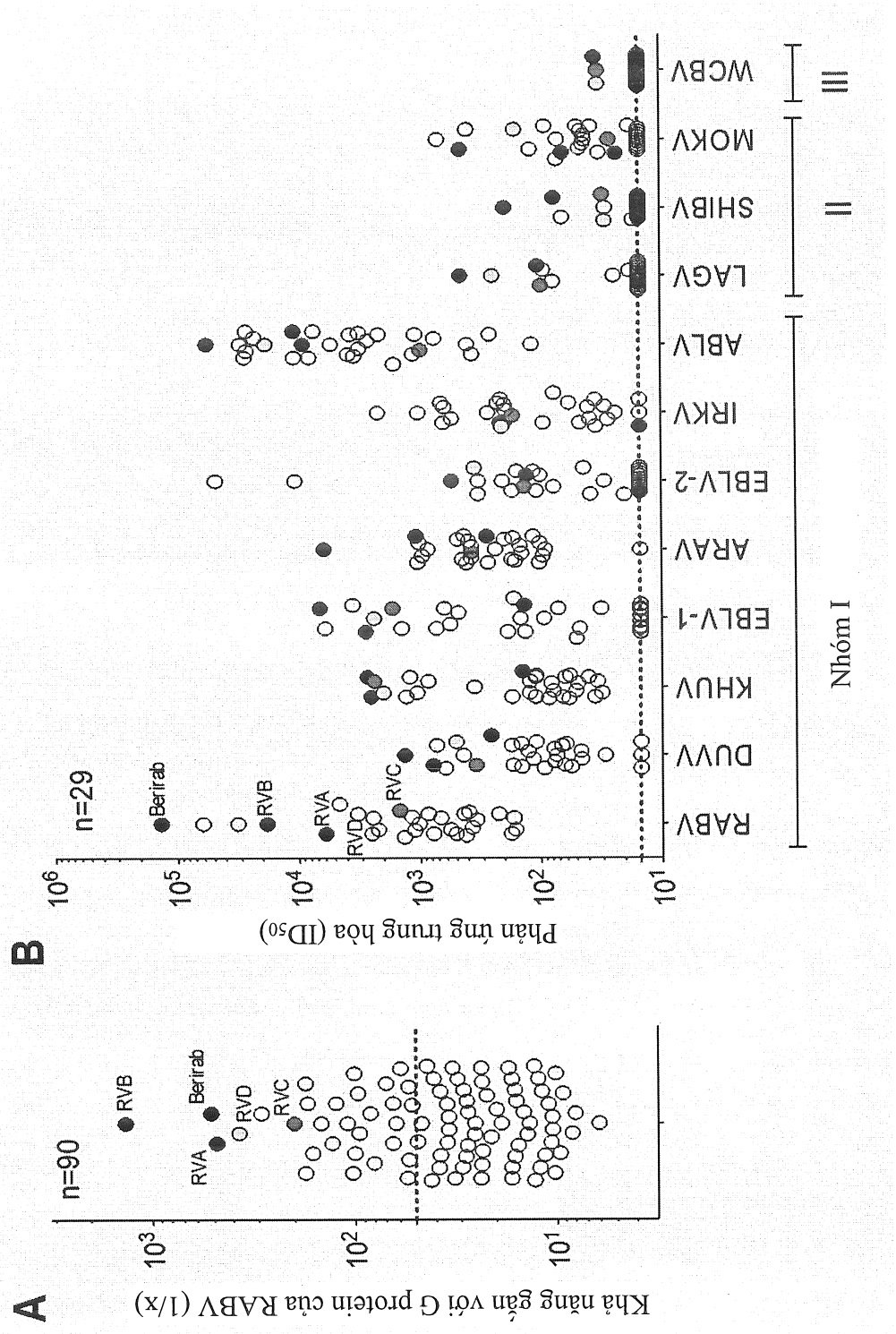

A
Khả năng gắn với G protein của RABV (1/x)
n=90
RVB
Berirab
RVA
RVD
RVC
B
Phản ứng trung hòa (ID50)
n=29
Berirab
RVB
RVA
RVD
RVC
RABV
DUVV
KHUV
EBLV-1
ARAV
EBLV-2
IRKV
ABLV
LAGV
SHIBV
MOKV
WCBV
Nhóm I
II
III

Fig. 2

		isotyp	Chuỗi nặng					Chuỗi nhẹ				Trung hòa virut giả CVS-11	WB	
	Người hiến		VH	% nts	JH	% nts	DH	VL/VK	% nts	JL/JK	% nts	(IC90 ng/ml)	Không khử	khử
CR057		IgG1 λ	V1-69*01	na	J5*02	na	D3-10*02	VL2-11*02	na	JL2*01	na	1	++	-
CR4098		IgG1 κ	V3-33*03	na	J4*02	na	D6-19*01	VK1-17*01	na	JK1*01	na	8	++	-
RVA122	A	IgG1 λ	V4-59*03	95%	J6*02	89%	D4-17*01	VL1-47*01	94%	JL3*02	92%	0,03	+	-
RVA144	A	IgG3 λ	V4-39*01	92%	J5*02	84%	D4-4*01	VL1-40*01	97%	JL2*01	92%	0,09	+	-
RVA125	A	IgG1 κ	V3-30*03	88%	J6*02	72%	D3-10*01	VK7-43*01	88%	JK3*02	84%	0,5	+	-
RVB185	B	IgG1 λ	V4-39*01	89%	J4*02	85%	D3-9*01	VL1-44*01	95%	JL3*02	97%	0,3	++	-
RVB492	B	IgG1 λ	V3-23*01	90%	J4*02	98%	D3-10*01	VL-2-11*01	97%	JL2*01	97%	0,2	-	-
RVB143	B	IgG1 λ	V1-46*01	93%	J6*02	90%	D2-21*01	VL2-14*01	94%	JL2*01	84%	317	++	+
RVB161	B	IgG1 λ	V4-39*07	96%	J4*02	88%	D4-17*01	VL1-44*01	98%	JL3*02	100%	0,08	-	-
RVB181	B	IgG3 λ	V3-30*02	91%	J6*02	82%	D1-26*01	VL1-40*01	94%	JL2*01	89%	1,4	+	-
RVB686	B	IgG1 κ	V3-30*04	95%	J2*01	94%	D6-6*01	VK1-5*01	93%	JK1*01	97%	0,6	+	-
RVC03	C	IgG1 κ	V3-23*01	91%	J4*02	94%	D3-3*01	VK1-44*01	96%	JK3*02	97%	1	+	-
RVC20	C	IgG3 κ	V4-31*06	96%	J4*02	90%	D3-3*01	VK1-16*01	98%	JK4*01	100%	0,1	++	-
RVC21	C	IgG3 λ	V4-39*01	93%	J5*01	80%	D4-17*01	VL1-51*01	96%	JL1*01	100%	0,04	+	-
RVC38	C	IgG3 κ	V1-69*06	91%	J4*02	85%	D5-24*01	VK1-9*01	96%	JK4*04	100%	0,01	-	-
RVC44	C	IgG3 κ	V3-21*01	92%	J3*02	86%	D6-19*01	VK1-39*01	95%	JK1*01	100%	0,7	++	+
RVC58	C	IgG1 λ	V3-23*04	96%	J6*02	95%	D2-15*01	VL2-14*01	99%	JL2*01	94%	0,01	-	-
RVC68	C	IgG1 κ	V4-59*01	93%	J6*03	89%	D4-17*01	VK1-12*01	96%	JK2*01	94%	9	+	+
RVC111	C	IgG1 κ	V3-30*04	98%	J4*02	94%	D1-14*01	VK1-5*01	96%	JK1*01	95%	0,6	-	-
RVC04	C	IgG3 λ	V3-30*03	95%	J6*02	77%	D1-7*01	VL1-40*01	96%	JL3*01	97%	0,02	+	-
RVC56	C	IgG3 κ	V3-7*01	98%	J6*02	98%	D3-10*01	VK-1*5*03	98%	JK2*01	97%	0,03	-	-
RVC69	C	IgG3 κ	V1-69*01	92%	J4*02	92%	D5-24*01	VK1-9*01	94%	JK4*01	95%	0,13	ND	-
RVD74	D	IgG1	V3-48*02	94%	J4*02	98%	D5-5*01	VL2-14*01	92%	JL2*01	91%	0,03	++	-

Fig. 3

	CR57	RVA125	RVC3	RVC20	RVE74	CR4098	RVA122	RVA144	RVB492	RVC4	RVC69	RVC38	RVC58	RVB181	RVC56	RVB185	RVC21	RVC161	RVC111	RVB686	RVC44	RVB143	RVC68	
CR057	100	89	90	100	99	1	-137	-188	-328	-6	-71	11	-262	-23	-29	-186	-110	-78	-62	-50	9	15	-8	I
RVA125	100	100	100	100	100	-4	-58	-83	-221	-6	-90	-172	-107	10	-38	-137	-157	-39	-5	16	17	20	12	
RVC3	100	99	100	100	99	-22	-72	-113	-265	-19	-96	-174	-171	-7	-54	-122	-142	-80	-22	-9	8	14	4	
RVC20	94	89	95	99	99	-16	-40	-64	-156	8	-93	-166	-115	13	-22	-96	-142	-25	20	26	28	36	41	
RVD74	99	66	73	99	99	4	2	-112	-525	-3	-53	-106	-125	-27	40	-96	-140	-63	39	47	15	16	10	
CR4098	17	-3	-10	26	4,4	100	95	88	96	99	97	98	97	99	96	87	97	67	98	-88	11	5	-10	III
RVA122	-3	-9	-9	-24	-6	95	100	88	100	78	97	98	100	96	95	90	96	63	98	8	20	4	4	
RVA144	-10	-18	-13	-20	2	74	92	94	92	60	69	82	92	92	94	98	96	67	98	12	36	9	10	
RVB492	-9	-2	-9	-23	-2	93	100	74	101	74	96	98	99	97	95	72	88	63	99	7	16	14	10	
RVC04	9	12	8	15	16	100	99	92	99	101	98	98	97	101	96	94	95	72	99	10	14	15	12	
RVC69	-4	-3	-9	-7	11	91	101	76	96	89	98	99	98	99	95	76	76	63	97	14	-2	16	10	
RVC38	-11	9	4	14	21	95	101	87	100	93	99	100	100	101	96	87	93	72	99	37	32	20	12	
RVC58	-15	4	-17	-17	6	84	97	65	97	52	80	93	94	88	95	49	84	67	97	23	14	12	4	
RVB181	-7	-9	-12	15	8	22	91	61	85	78	57	76	77	99	83	15	79	66	94	7	22	2	4	III.2
RVC56	-10	2	-13	1	3	8	76	33	58	21	19	57	59	53	95	21	51	69	92	13	24	9	3	
RVB185	-2	-9	-12	-7	2	25	63	70	64	10	0	-3	33	36	96	96	91	64	97	-1	-9	8	1	
RVC21	-7	-5	2	1	5	31	74	94	69	46	20	34	67	93	94	96	98	66	97	8	39	7	2	
RVB161	-4	-11	-9	7	4	26	62	33	38	-3	-36	-30	-9	24	85	5	86	86	94	2	-2	3	2	
RVC111	-1	-2	-5	4	10	5	64	30	-17	5	-5	37	18	-6	90	27	53	73	96	13	-6	11	1	
RVB686	82	43	13	74	91	86	100	37	99	66	98	100	99	94	96	3	58	74	92	99	24	23	10	A
RVC44	18	8	16	55	31	-2	6	11	-48	34	17	-66	-42	61	6	-11	-16	59	26	38	100	27	19	B
RVB143	9	-11	-3	21	8	32	43	-8	-41	-5	1	-14	1	17	15	-39	-27	1	29	8	-5	99	98	C
RVC68	-6	3	-16	27	5	15	20	-17	-40	5	-13	-30	-18	21	-7	-44	-45	8	10	-1	-10	98	100	
Berrab	97	93	87	100	99	99	99	97	102	98	97	99	98	99	100	96	98	97	99	91	66	53	39	

Fig. 4

			I			III							III.2			B	C	
			RVC3	RVC20	CR57	RVA122	RVA144	RVB492	RVC38	RVC58	CR4098	RAB1	RVC21	RVB185	RVC111	RVC44	RVC68	Berirab
Nhóm I	RABV	CVS-11	1,05	0,13	0,99	0,03	0,09	0,19	0,01	0,01	7,87	48,00	0,04	0,34	0,61	0,65	8,91	987,00
		ERA	0,40	0,30	0,99	0,10	0,90	0,30	0,10	0,30	0,70	1,00	29,00	0,70	0,61	1,50	12,90	1086,00
	DUVV	RSA2006	13,10	0,70	116,10	0,20	2,70	0,10	0,04	0,20	-	-	3,50	0,05	1159,00	5,70	45,80	-
		RV131	12,60	2,60	14,80	0,30	8,70	0,20	0,30	1,20	-	-	7860,00	1,20	2,30	11,70	32,60	-
	EBLV-1	122938	5,36	16,24	-	0,46	5,04	0,07	0,05	0,07	-	-	34,45	2,15	2246,00	28,96	84,00	10925,00
		RV9	3,00	3,60	-	2,00	8,60	2,60	0,20	1,20	-	-	792,20	8,50	6,90	63,50	309,70	-
		RV20	0,40	0,30	-	0,20	2,30	0,20	0,02	0,10	-	-	240,00	0,60	1,50	0,60	3,20	-
	EBLV-2	RV1332	-	0,23	13,45	2,62	2,24	0,09	0,39	1,75	-	-	5,09	3,60	1358,00	3,65	16,22	19501,00
		RV628	0,10	0,40	1,70	0,40	10,10	0,20	0,30	0,60	-	-	54,60	2,10	3,70	8,50	79,40	-
		RV1787	0,30	0,10	2,10	0,10	10,00	0,10	0.06	0,20	-	-	217,40	0,60	0,30	0,10	22,10	-
	ABLV	RV634	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,07	0,10	0,10	3,20	10,00	44,80	0,08	0,40	0,40	0,30	265,60
	IRKV		-	23,26	68,62	0,17	34,46	0,05	2,43	0,06	-	-	2,40	45,80	1983,00	23,66	317,26	34510,00
	KHUV		0,10	0,79	4,42	0,10	7,61	0,17	0,10	0,10	-	6700,00	371,00	1,45	9,09	287,00	259,00	-
	ARAV		0,10	0,10	0,13	0,10	0,55	0,10	0,10	0,10	1757,00	140,00	18,55	0,10	0,53	22,40	19,21	67,85
Nhóm II	LBV	8619	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	465,00	219,00	-
		RV1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48,20	2,10	-
		SA2004	-	-	-	-	-	-	-	-	396,90	-	-	-	-	-	100,60	-
	MOKV	RV4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	56,30	-
		RA36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	-	76,00	-
	SHIBV		-	28,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135,00	110,00	-
III	WCBV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	IKOV		nd	11,00	-	nd	nd	nd	nd	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	-

Fig. 5

			I			III							III.2			B	C	
			RVC3	RVC20	CR57	RVA122	RVA144	RVB492	RVC38	RVC58	CR4098	RAB1	RVC21	RVB185	RVC111	RVC44	RVC68	Beirab
Nhóm I	RABV	V6155	318	234	648	17	39	30	19	21	-	484	45	160	2513	153	-	5075
		BW/badger	36	46	7	40	98	30	28	21	27	13	31	35	934	232	2958	nd
		Niger/Dog	919	27	515	18	57	29	28	21	4593	nd	41	34	934	376	7604	nd
		9704	83	83	63	6	83	83	9	6	83	5	71	71	1285	63	214	9211
	DUVV	86132SA	63	83	5900	80	250	21	21	60	-	nd	21	210	30	-	2000	-
		RS639	nd	-	-	nd	nd	nd	nd	415	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-
	EBLV-1	8918	-	83	-	0,5	29	20	15	21	-	-	229	18	7947	3435	-	-
		122938	105	569	-	46	460	850	909	815	-	nd	372	349	-	5960	-	-
	EBLV-2	02053	206	33	21	1750	5200	-	5900	250	21	nd	5900	-	29	750	30	21
		94112	0,5	1562	28	-	-	-	-	500	28	nd	-	-	30	1080	200	0,5
		RV1332	nd	29	1888	nd	nd	nd	nd	66	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	33685
	ABLV	98010	-	-	-	-	-	2000	200	800	-	-	-	-	-	700	-	-
		V1039	36	397	875	18	43	30	28	21	96	nd	31	34	2115	394	-	-
	BBLV	1301	nd	22	54	nd	nd	nd	nd	24	-	309	nd	nd	nd	nd	nd	-
II	LBV	8619	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	210	588	-
	MOKV	(strain?)	200	7	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	24	-	-	-

Fig. 6

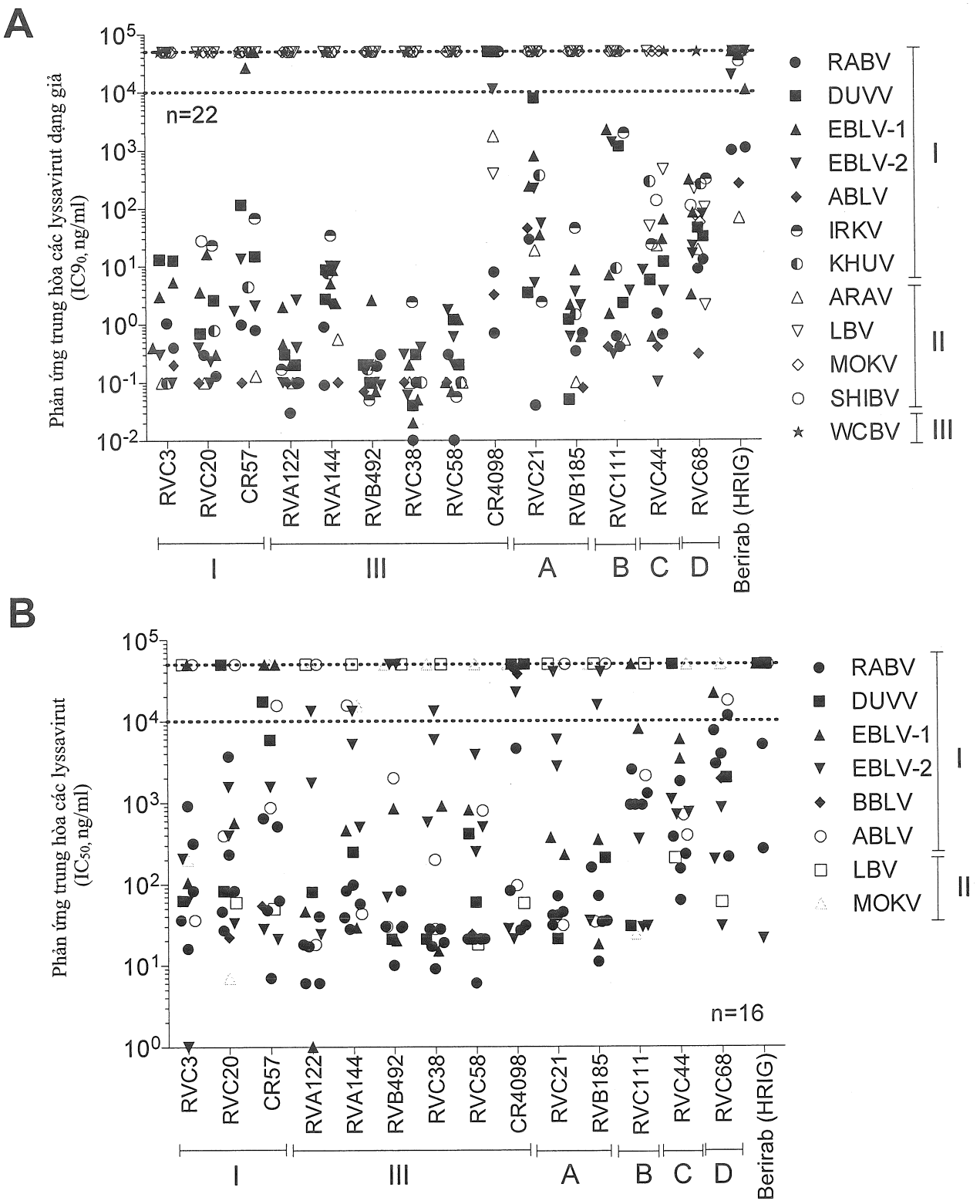

A
Phản ứng trung hòa các lyssavirut dạng giả
(IC90, ng/ml)
n=22
RABV
DUVV
EBLV-1
EBLV-2
ABLV
IRKV
KHUV
ARAV
LBV
MOKV
SHIBV
WCBV
I
II
III
RVC3
RVC20
CR57
RVA122
RVA144
RVB492
RVC38
RVC58
CR4098
RVC21
RVB185
RVC111
RVC44
RVC68
Berirab (HRIG)
I
III
A
B
C
D
B
Phản ứng trung hòa các lyssavirut
(IC50, ng/ml)
n=16
RABV
DUVV
EBLV-1
EBLV-2
BBLV
ABLV
LBV
MOKV
I
II
RVC3
RVC20
CR57
RVA122
RVA144
RVB492
RVC38
RVC58
CR4098
RVC21
RVB185
RVC111
RVC44
RVC68
Berirab (HRIG)
I
III
A
B
C
D

Fig. 7

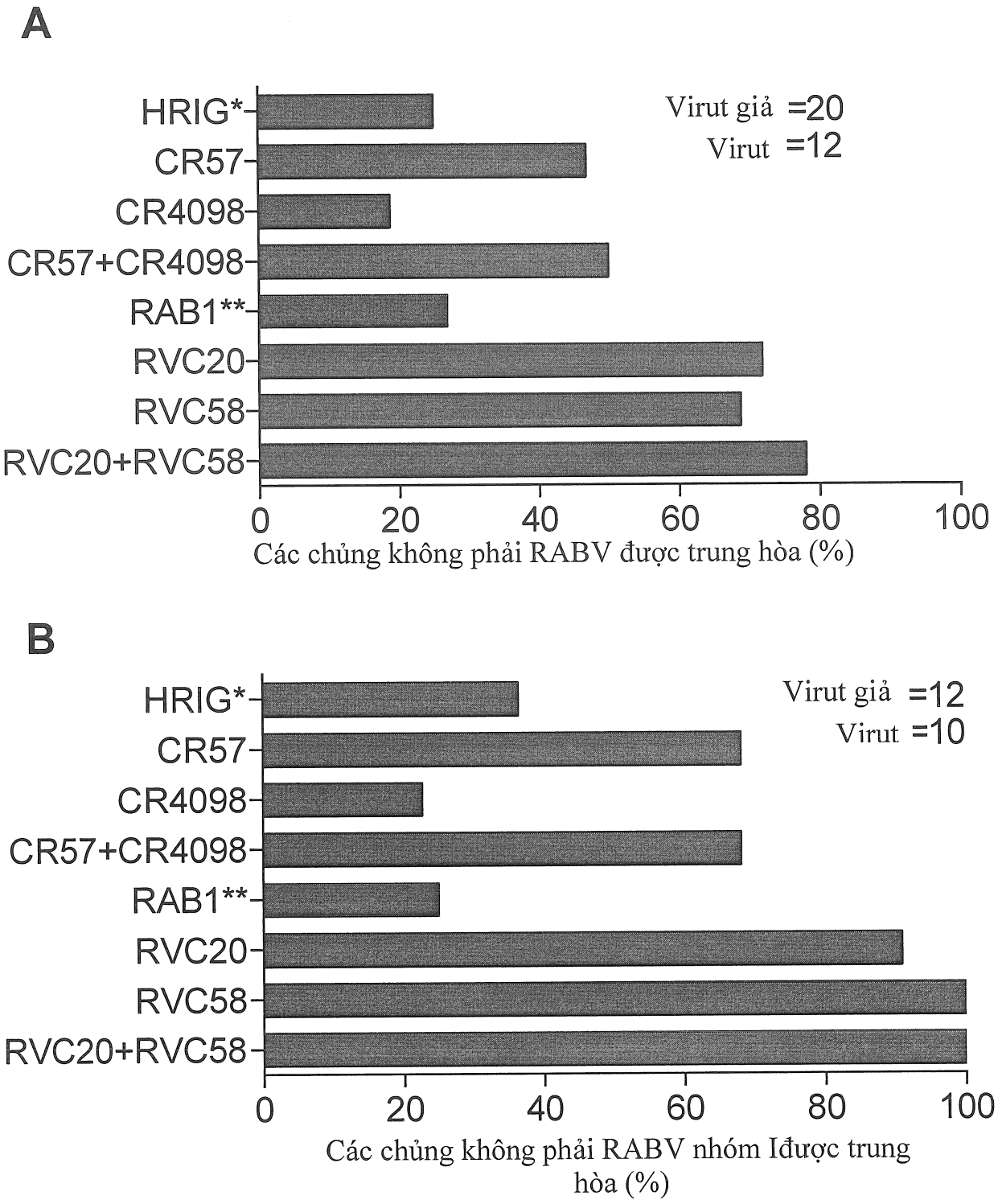

A
HRIG*
CR57
CR4098
CR57+CR4098
RAB1**
RVC20
RVC58
RVC20+RVC58
Virut giả =20
Virut =12
0
20
40
60
80
100
Các chủng không phải RABV được trung hòa (%)
B
HRIG*
CR57
CR4098
CR57+CR4098
RAB1**
RVC20
RVC58
RVC20+RVC58
Virut giả =12
Virut =10
0
20
40
60
80
100
Các chủng không phải RABV nhóm Iđược trung hòa (%)

Fig. 8

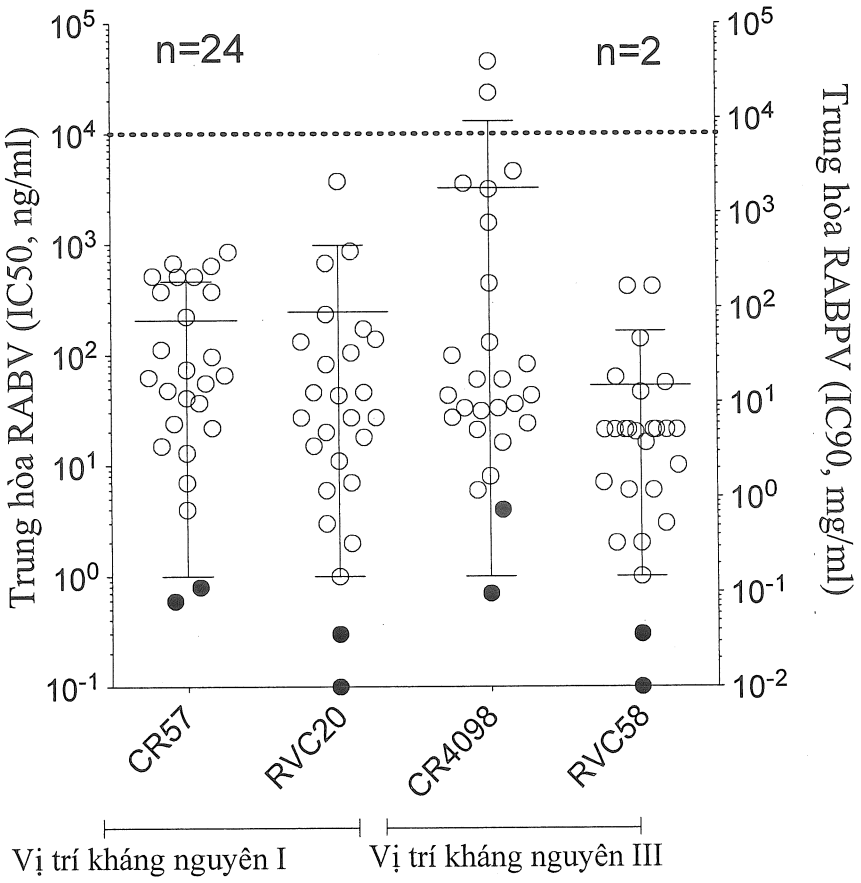
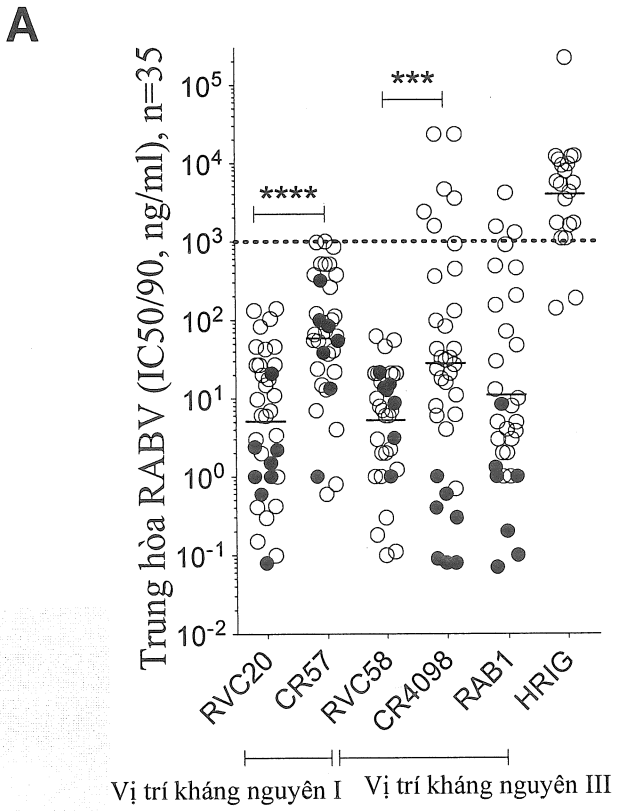

n=24
n=2
Trung hòa RABV (IC50, ng/ml)
Trung hòa RABPV (IC90, mg/ml)
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
10^{-2}
CR57
RVC20
CR4098
RVC58
Vị trí kháng nguyên I
Vị trí kháng nguyên III

Fig. 9


A
Trung hòa RABV (IC50/90, ng/ml), n=35
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
10^{-2}
****
***
RVC20
CR57
RVC58
CR4098
RAB1
HRIG
Vị trí kháng nguyên I
Vị trí kháng nguyên III

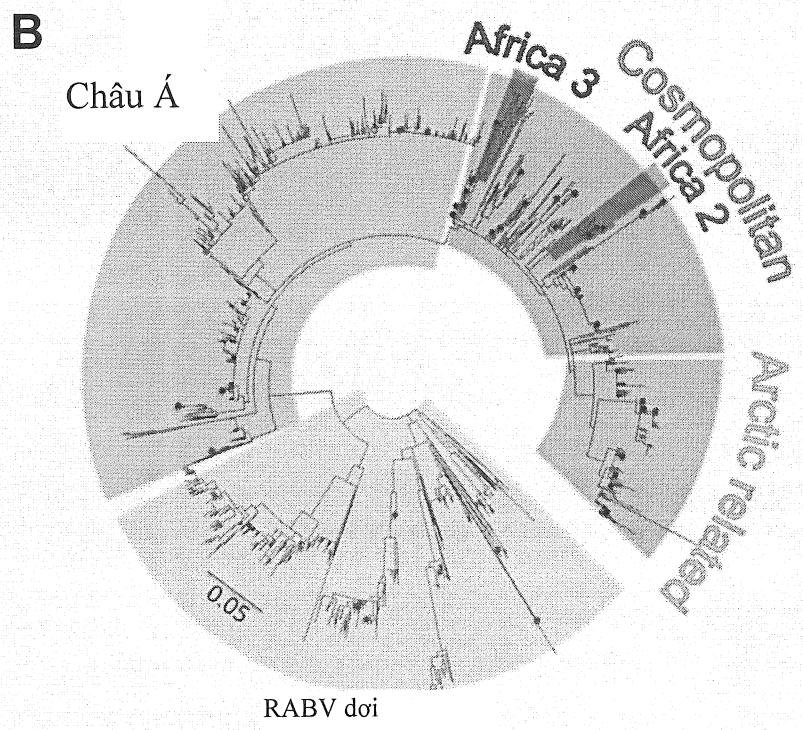

B
Châu Á
Africa 3
Cosmopolitan
Africa 2
Arctic related
0.05
RABV dơi

Fig. 10

Tên chủng	RVC58	RVC20	CR57	CR4098	RAB1	HRIG (Berirab)	Thử nghiệm trung hòa được sử dụng
9704	6	83	63	83	5	188	RFFIT
Botswana/dog/BNVL2009-3580/V5493-2010	2	18	15	6	10	ND	FAVN
Botswana/honey badger/BNVL2009-6665/V5493-2010	21	46	7	27	13	ND	FAVN
Burkina Faso/dog/139-2007/V6155-2007	46	27	855	3524	ND	ND	FAVN
Burkina Faso/dog/9-2007/V6155-2007	0,18	0,42	262	2376	483	12000	FAVN
02045	1	133	4	445	1	1604	RFFIT
France/red fox/GS7 1-11-1990/V1039-2011	21	46	515	43	ND	ND	FAVN
Pasteur Virus (PV)-Paris-93127	56	1	56	24	ND	14	RFFIT
9001	63	140	41	130	ND	140	RFFIT
Italy/dog/V3425/2009	3	43	74	33	ND	12315	FAVN
Italy/human/V117/1996 (Nepal)	1	0,41	55	18	3	7894	RFFIT
Italy/red fox/V673/2011	21	105	378	43	30	ND	FAVN
Brazil/bat/260-08/RS1249-2013	7,9	6,15	969	11	460	3464	RFFIT
Brazil/bovine/303-2011/RS1040-2012	1,23	9,8	96	31	73	1080	RFFIT
Brazil/kinkajou/RS3609-5-2011	2	2	520	1571	4153	5509	FAVN
Challenge virus strain (CVS)-11	0,01	0,13	0,99	7,87	48	987	PV
Challenge virus strain (CVS)-11	16	20	37	21	4,2	5778	RFFIT
Challenge virus strain (CVS)-11	13	1171	2841	56	ND	58054	FAVN
9508SAD BERN	7	1	1000	23600	1	221300	RFFIT
Niger/Dog/105-251-2007/V6097-2007	21	27	515	4593	ND	ND	FAVN
04030	6	6	13	543	2	4233	RFFIT
Poland/racoon dog/1985/V3229-2009	20	27	377	33	154	ND	FAVN
9141	10	11	22	930	1294	10965	RFFIT
Spain/dog/201020958-2010/RS639-2012	2,23	3,4	121	6,2	3	5288	RFFIT
8743	7	3	66	99	2	1700	RFFIT
Tunisia/dog/ARIANA2-1991/V3951-2010	21	15	113	16	8	ND	FAVN
ERA (Evelyn Rokitniki Abelseth)	0.3	0.3	0.8	0.7	<7	1086	PV
CVS 9.13	21	7	24	23600	ND	1700	RFFIT
RV250	21,5	2,2	84,5	0,6	0,2	ND	PV
RV193	12,8	0,6	38,4	0,4	1,4	ND	PV
RV277	13,9	1,5	100,3	0,3	1,3	ND	PV
RV61	15,1	0,08	54,7	0,09	0,07	ND	PV
93033ISR	3,1	2,4	13,5	<0.08	0,1	ND	PV
86081IRA	<7	<7	<7	<7	<7	ND	PV
91004USA	8,7	21	319,5	0,08	8,4	ND	PV
Mauritania/dog/2019-2006/V6235-2007	0,15	0,11	100	359	206	9704	FAVN
Pittman More strain (PM) (PV12?)	66	NA	100	21	NA	11200	RFFIT
87006TU*	+	+	+	+	+	ND	FACS
91001USA*	+	+	+	+	-	ND	FACS
91035OMA*	+	+	+	+	+	ND	FACS
98011CHI*	+	+	+	+	+	ND	FACS
09029NEP*	+	+	-	+	+	ND	FACS
02052AFG*	+	+	+	+	+	ND	FACS
FLRC090148*	+/-	+	+/-	+	+	ND	FACS
RV/R3.PHL/2008/TRa-065*	+	+	-	+	+	ND	FACS

* được kiểm tra khả năng gắn với thể biến nạp G-protein

Fig. 11

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loài virut	Nhóm	Giống	RVC58	RVC20	CR57	CR4098	HRIG (Berirab)	Thử nghiệm được dùng
9704	Tadarida brasiliensis (bat)	Argentina	1997	RABV	I	Bat (American Indigenous)	6	83	63	83	188	RFFIT
Botswana/dog/BNVL2009-3580/V5493-2010	Chó	Botswana	2009	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	2	18	15	6	n.e.	FAVN
Botswana/honey badger/BNVL2009-6665/V5493-2010	Con lửng	Botswana	2009	RABV	I	Africa 3	21	46	7	27	n.e.	FAVN
Burkina Faso/dog/139-2007/V6155-2007	Chó	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	46	27	855	3524	n.e.	FAVN
Burkina Faso/dog/9-2007/V6155-2007	Chó	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	21	234	648	45926	5075	FAVN
02045	Chó	Trung Quốc	2002	RABV	I	Asian 1 or 2a (China)	1	133	4	445	1604	RFFIT
France/red fox/GS7 1-11-1990/V1039-2011	Cáo đỏ	Pháp	1990	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	21	46	515	43	n.e.	FAVN
Pasteur Virus (PV)-Paris-93127	na	Pháp	na	RABV	I	na	56	1	56	24	14	RFFIT
9001	Chó (virut dơi hút máu)	French Guyana	1990	RABV	I	Bat (American Indigenous)	63	140	41	130	140	RFFIT
Italy/dog/V3425/2009	Chó	Italy	2009	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	3	43	74	33	12315	FAVN
Italy/human/V117/1996 (Nepal)	Con người	Italy	1996	RABV	I	Arctic-like-1	21	3704	48	31	269	FAVN
Italy/red fox/V673/2011	Cáo đỏ	Italy	2011	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	21	105	378	43	n.e.	FAVN
Brazil/bat/260-08/RS1249-2013	Dơi/ Mus musculus*	Mỹ Latinh	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	415	873	678	60	12192	FAVN
Brazil/bovine/303-2011/RS1040-2012	Dơi hút máu	Mỹ Latinh	2011	RABV	I	Bat (American indigenous)	140	678	224	60	12192	FAVN
Brazil/kinkajou/RS3609-5-2011	Không biết	Mỹ Latinh	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	2	2	520	1571	5509	FAVN
Challenge virus strain (CVS)-11	na	na	na	RABV	I	na	13/16/0.1	1171, 20, 0.1	2841	56/4408/4	58054/5778/987	FAVN/RFIIT/PV
9508SAD BERN	na	na	na	RABV	I	na	7	1	1000	23600	221300	RFFIT
Niger/Dog/105-251-2007/V6097-2007	Chó	Niger	2007	RABV	I	Africa 2	21	27	515	4593	n.e.	FAVN
04030	Người bị chó cắn	Phillipines	2004	RABV	I	Asian 2b (Philippines)	6	6	13	543	4233	RFFIT
Poland/racoon dog/1985/V3229-2009	Chó Racoon	Phần Lan	1985	RABV	I	Cosmopolitan, North-Eastern Europe	20	27	377	33	n.e.	FAVN
9141	Cáo bắc cực	Siberia, Nga	1988	RABV	I	Arctic 2 (Siberia)	10	11	22	930	10965	RFFIT
Spain/dog/201020958-2010/RS639-2012	Chó	Spain (ex Morocco)	2010	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	415	172	97	36	7179	FAVN
8743	Con người	Thái Lan	1983	RABV	I	Asian 2c (south East Asia)	7	3	66	99	1700	RFFIT
Tunisia/dog/ARIANA2-1991/V3951-2010	Chó	Tunisia	1991	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	21	15	113	16	n.e.	FAVN
ERA (Evelyn Rokitniki Abelseth)	na	na	na	RABV	I	na	0.3	0.3	0.8	0.7	1086	PV
CVS 9.13				RABV	I	na	21	7	24	23600	1700	RFFIT

Fig. 12

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loài virut	Nhóm	RVC58	RVC20	CR57	CR4098	HRIG (Berirab)	Thử nghiệm được dùng	Số đăng ký
ABLV/Australia/bat/9810AUS-1998/V1039-2011	*Pteropus alecto* (Black flying fox)	Australia	1996	ABLV	I	21	397	875	96	-	FAVN	NA
98010	Insectivorous bat	Australia	1996	ABLV	I	800	-	15600	-	-	RFFIT	AAD47899.1
1301 Bokeloh bat lyssavirus	Myotis nattererii (dơi)	Pháp	2013	BBLV	I	24	22	54	38106	-	RFFIT	NA
86132SA	Con người	Nam Phi	1971	DUVV	I	60	83	5900	-	-	RFFIT	NA
DUVV/SouthAfrica/human/96132SA-1971/RS639-2012	Con người	Nam Phi	?	DUVV	I	415	52650	17433	-	251821	FAVN	NA
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009	Eptesicus serotinus (dơi)	Pháp	2002	EBLV-1	I	815	569	-	-	NA	FAVN	NA
EBLV1b/France/bat/8918-1989	Eptesicus serotinus (dơi)	Pháp	1989	EBLV-1	I	7	129	-	-	49101	RFFIT	EU293112
EBLV2/UK/bat/RV1332-2002/V3951-2009	Myotis daubentonii (dơi)	Anh	2002	EBLV-2	I	919	52649	17433	-	-	FAVN	NA
94112	Myotis dasycneme (dơi)	Hà Lan	1989	EBLV-2	I	500	1562	28	28	NA	RFFIT	NA
02053	(dơi) Myotis dasycneme	Thụy Sỹ	2002	EBLV-2	I	250	33	21	21	NA	RFFIT	NA
MOK	Mèo	Zimbabwe	1981	MOK	II	-	7	-	-	-	RFFIT	NA
Shimoni bat Virus	Hipposideros commersoni (bat)	Kenya	2009	SHIBV	II	-	28	-	-	-	PV	NA
West Caucasian bat Virus	Miniopterus schreibersi (bat)	Nga	2002	WCBV	III	-	-	-	-	-	PV	NA
Australian bat lyssavirus/RV634	Pteropus alecto (bat)	Australia	1996	ABLV	I	0.1	0.1	0.1	3	266	PV	NA
Aravan Virus	Myotis blythi (bat)	Kyrgyzstan	1991	ARAV	I	0.1	0.1	0.1	1757	-	PV	AAP86775.1
Duvenhage Virus RSA2006	?	Nam Phi	2006	DUVV	I	0.2	0.7	116	-	-	PV	EU623444
Duvenhage Virus ZIM86-RV131	Dơi	Zimbawe	1986	DUVV	I	1	3	15	-	-	PV	NA
European bat lyssavirus 1.RV20	Dơi	Đức	1986	EBLV-1	I	0.1	0.3	-	-	49101	PV	NA
European bat lyssavirus 1.RV9	Dơi	Đức	1968	EBLV-1	I	1	4	-	-	-	PV	EU352768
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009*	Eptesicus serotinus (dơi)	Pháp	2002	EBLV-1	I	0.1	16	26579	-	10925	PV	NA
EBLV2/UK/bat/RV1332-2002/V3951-2009*	Myotis daubentonii (dơi)	Anh	2002	EBLV-2	I	1,75	0,23	13,45	11197	19501	PV	NA
European bat lyssavirus 2.RV1787	Myotis daubentonii (dơi)	Anh	2004	EBLV-2	I	0.2	0.1	2	-	-	PV	EU352769
European bat lyssavirus 2.RV628	Bat	Anh	1996	EBLV-2	I	0.6	0.4	2	-	-	PV	NA
Irkut Virus	Murina leucogaster (bat)	Nga	2002	IRKV	I	0.06	23	69	-	34510	PV	NA
Khujand Virus	Myotis mystacinus (bat)	Tajikistan	2001	KHUV	I	0.1	0.8	4	77056	72951	PV	AAP86779.1
8619*	Eidolon helvum (bat)	Nigeria	1956	LBV	II	-	-	-	-	-	RFFIT	NA
Lagos Bat Virus NIG56-RV1	Eidolon helvum (bat)	Nigeria	1956	LBV	II	-	-	-	-	-	PV	EF547431
Lagos Bat Virus SA2004	Eptesicus wahlbergi (bat)	Nam Phi	2004	LBV	II	-	-	-	397	-	PV	EF547428
Mokola Virus NIG68.RV4	Crocidura sp. (Shrew)	Nigeria	1968	MOK	II	-	-	-	-	-	PV	HM623780
Mokola Virus 98/071 RA36	Feline	Nam Phi	1998	MOK	II	-	-	-	-	-	PV	GQ500108

Fig. 13

		CVS-11	K226E	K226N	G229E	N336D	N336S
I	CR57						
	RVC3						nd
	RVC20						
III	CR4098						
	RVA122						nd
	RVA144						nd
	RBV185						nd
	RVC21						nd
	RVC58						
	RVB492						nd
	RVC38						nd
	RAB1		nd	nd	nd	nd	
III.2	RVC111						nd
B	RVC44						nd
C	RVC68						nd

Fig. 14

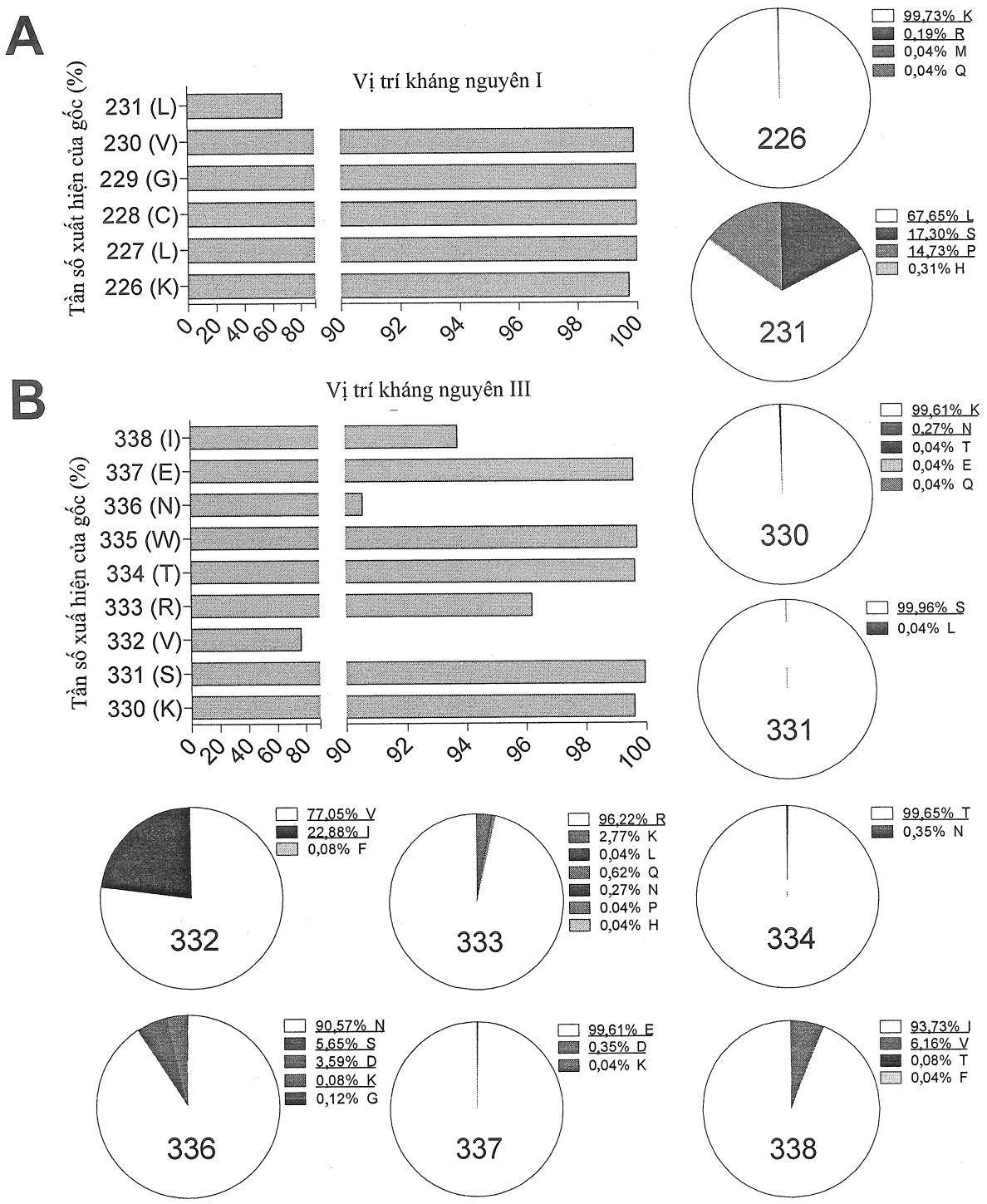

A
Vị trí kháng nguyên I
Tần số xuất hiện của gốc (%)
231 (L)
230 (V)
229 (G)
228 (C)
227 (L)
226 (K)
0 20 40 60 80 90 92 94 96 98 100
226
99,73% K
0,19% R
0,04% M
0,04% Q
231
67,65% L
17,30% S
14,73% P
0,31% H
B
Vị trí kháng nguyên III
Tần số xuất hiện của gốc (%)
338 (I)
337 (E)
336 (N)
335 (W)
334 (T)
333 (R)
332 (V)
331 (S)
330 (K)
0 20 40 60 80 90 92 94 96 98 100
330
99,61% K
0,27% N
0,04% T
0,04% E
0,04% Q
331
99,96% S
0,04% L
332
77,05% V
22,88% J
0,08% F
333
96,22% R
2,77% K
0,04% L
0,62% Q
0,27% N
0.04% P
0,04% H
334
99,65% T
0,35% N
336
90,57% N
5,65% S
3,59% D
0,08% K
0,12% G
337
99,61% E
0,35% D
0,04% K
338
93,73% J
6,16% V
0,08% T
0,04% F

Fig. 15

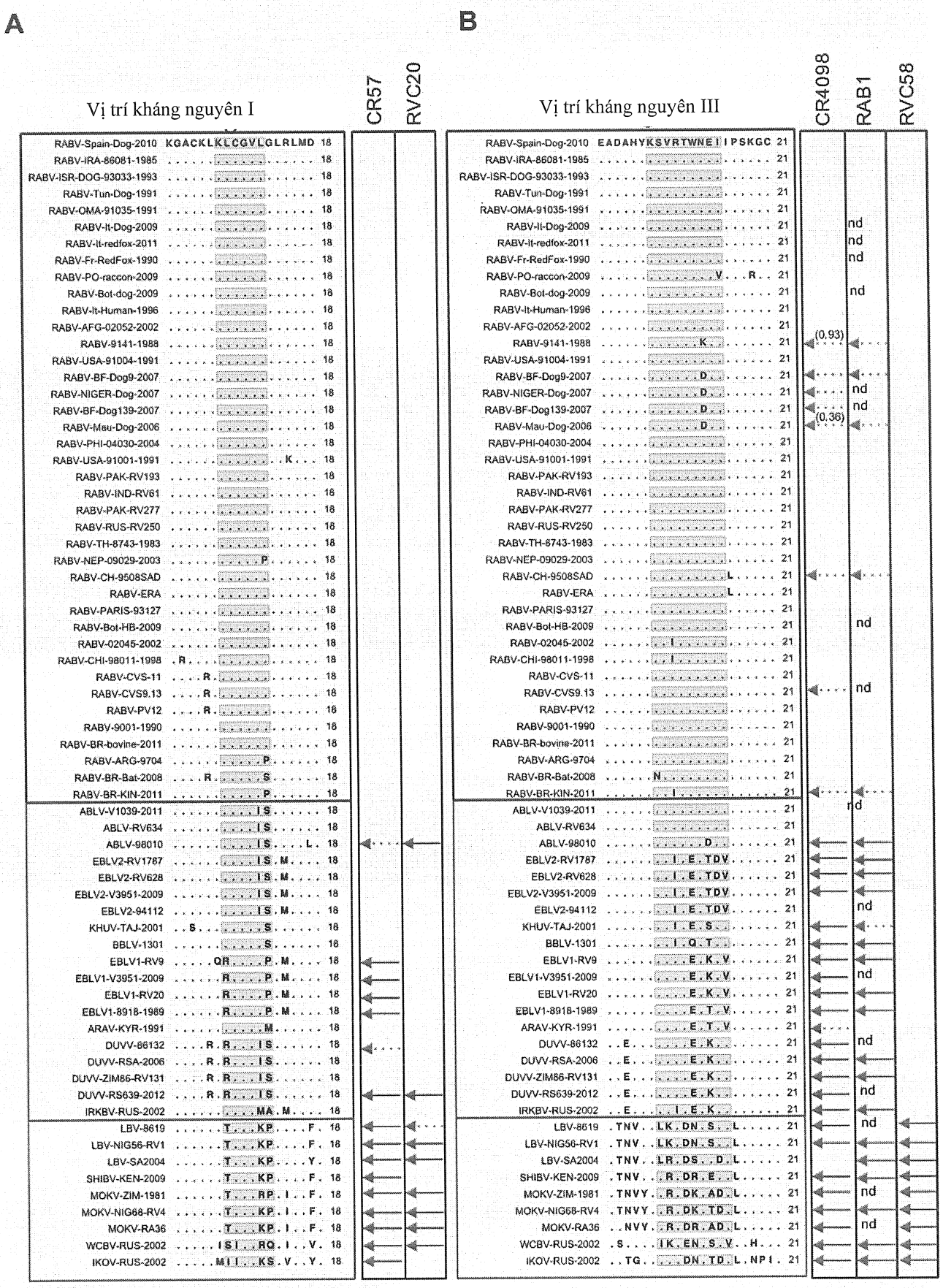

A
B
Vị trí kháng nguyên I
CR57
RVC20
Vị trí kháng nguyên III
CR4098
RAB1
RVC58

Fig. 16

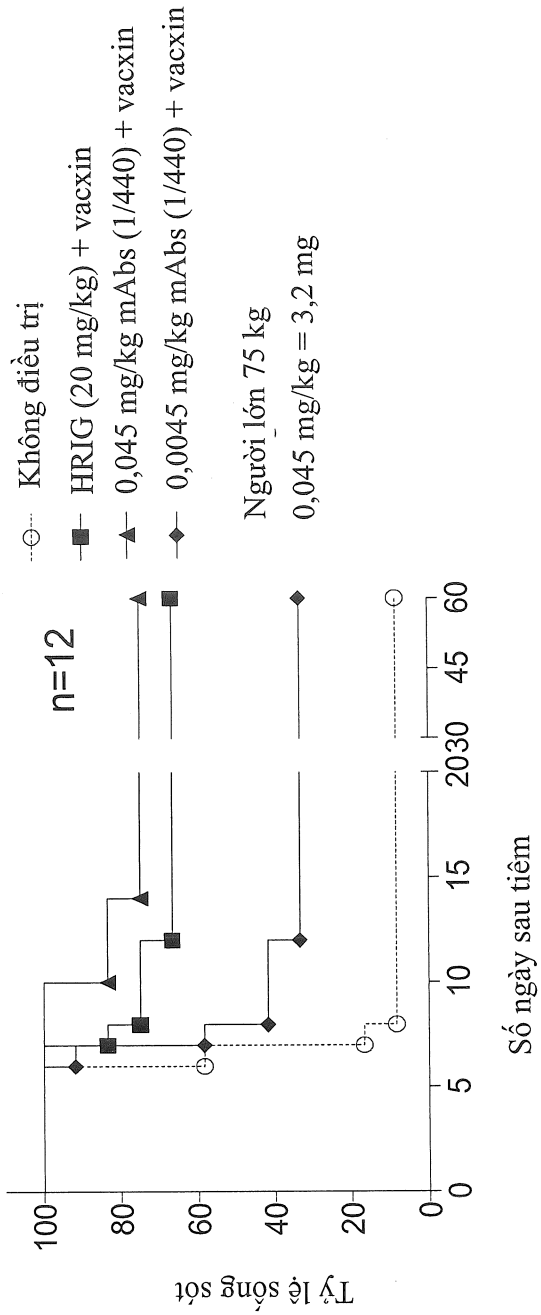

Tỷ lệ sống sót
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
2030
45
60
Số ngày sau tiêm
n=12
Không điều trị
HRIG (20 mg/kg) + vacxin
0,045 mg/kg mAbs (1/440) + vacxin
0,0045 mg/kg mAbs (1/440) + vacxin
Người lớn 75 kg
0,045 mg/kg = 3,2 mg

Fig. 17

A
Nồng độ kháng thể IgG chuột đồng gắn với G protein (IU/ml)
10^3
10^2
10^1
10^0
Vacxin
Vacxin + HRIG
Vacxin + mAbs
Vacxin + mAbs
B
Nồng độ kháng thể trung hòa huyết thanh chuột đồng(IU/ml)
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
Vacxin
Vacxin + HRIG
Vacxin + mAbs
Vacxin + mAbs HD
C
Nồng độ kháng thể IgG người (µg/ml)
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
Vacxin
Vacxin + HRIG
Vacxin + mAbs
Vacxin + mAbs HD

Fig. 18

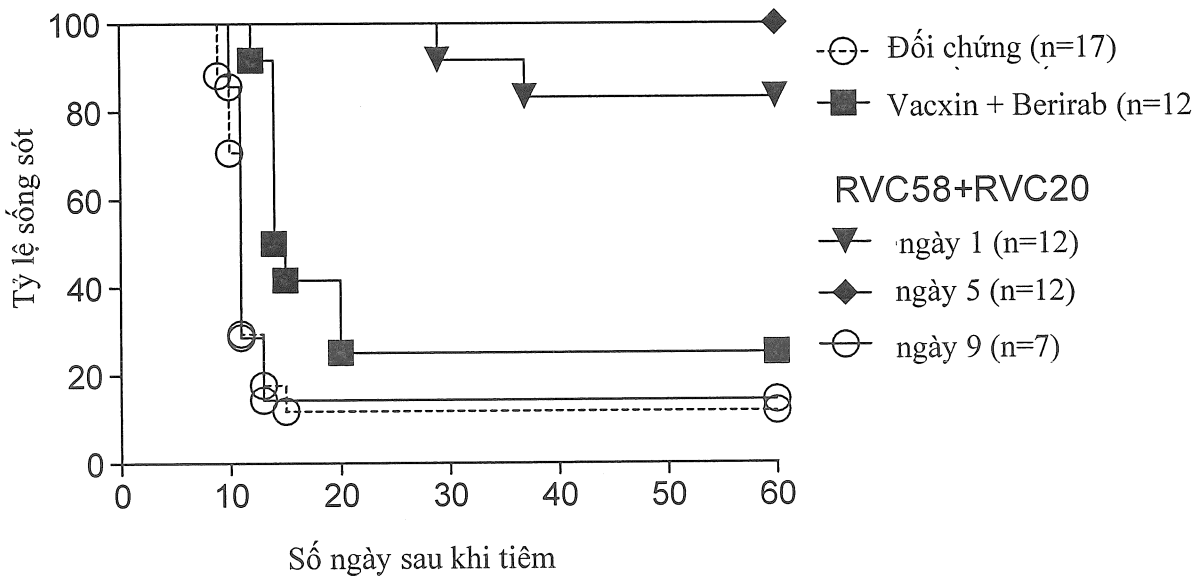

100
80
60
40
20
0
Tỷ lệ sống sót
0
10
20
30
40
50
60
Số ngày sau khi tiêm
Đối chứng (n=17)
Vacxin + Berirab (n=12
RVC58+RVC20
ngày 1 (n=12)
ngày 5 (n=12)
ngày 9 (n=7)

Fig. 19

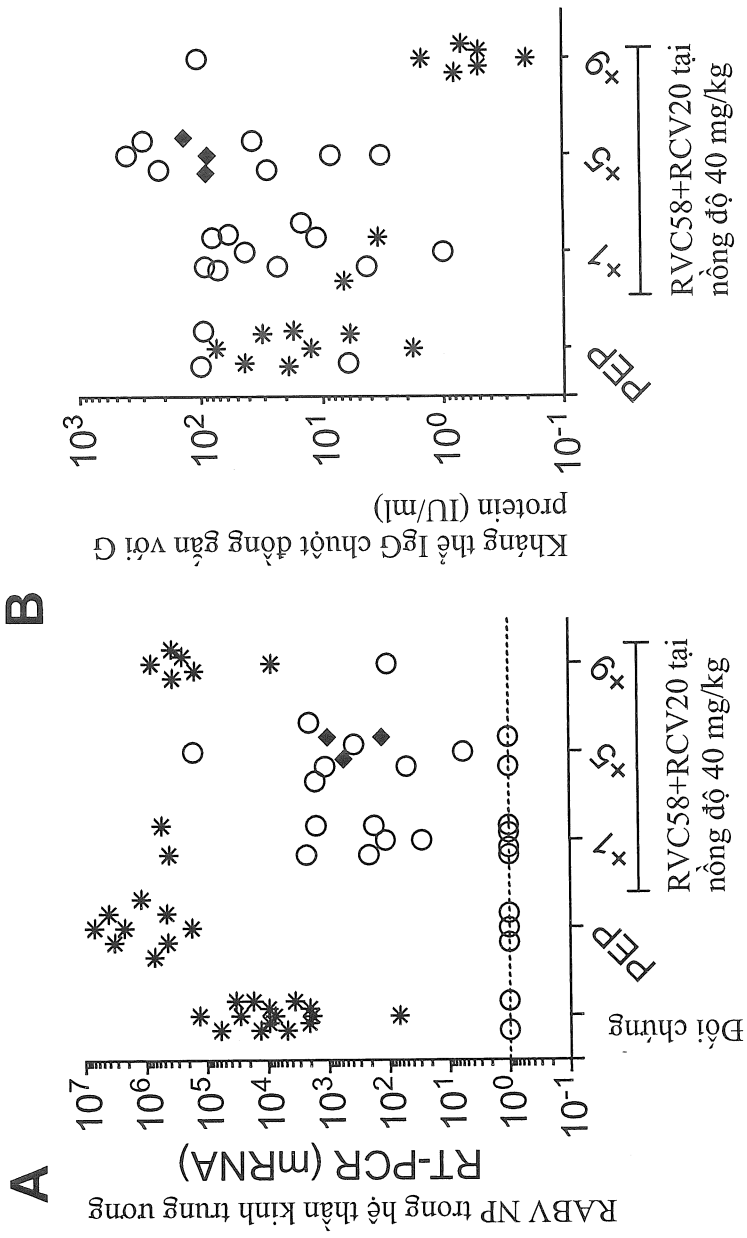

A
RABV NP trong hệ thần kinh trung ương
RT-PCR (mRNA)
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
Đối chứng
PEP
7_x
5_x
9_x
RVC58+RCV20 tại nồng độ 40 mg/kg
B
Kháng thể IgG chuột đồng gắn với G protein (IU/ml)
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
PEP
7_x
5_x
9_x
RVC58+RCV20 tại nồng độ 40 mg/kg

Fig. 20

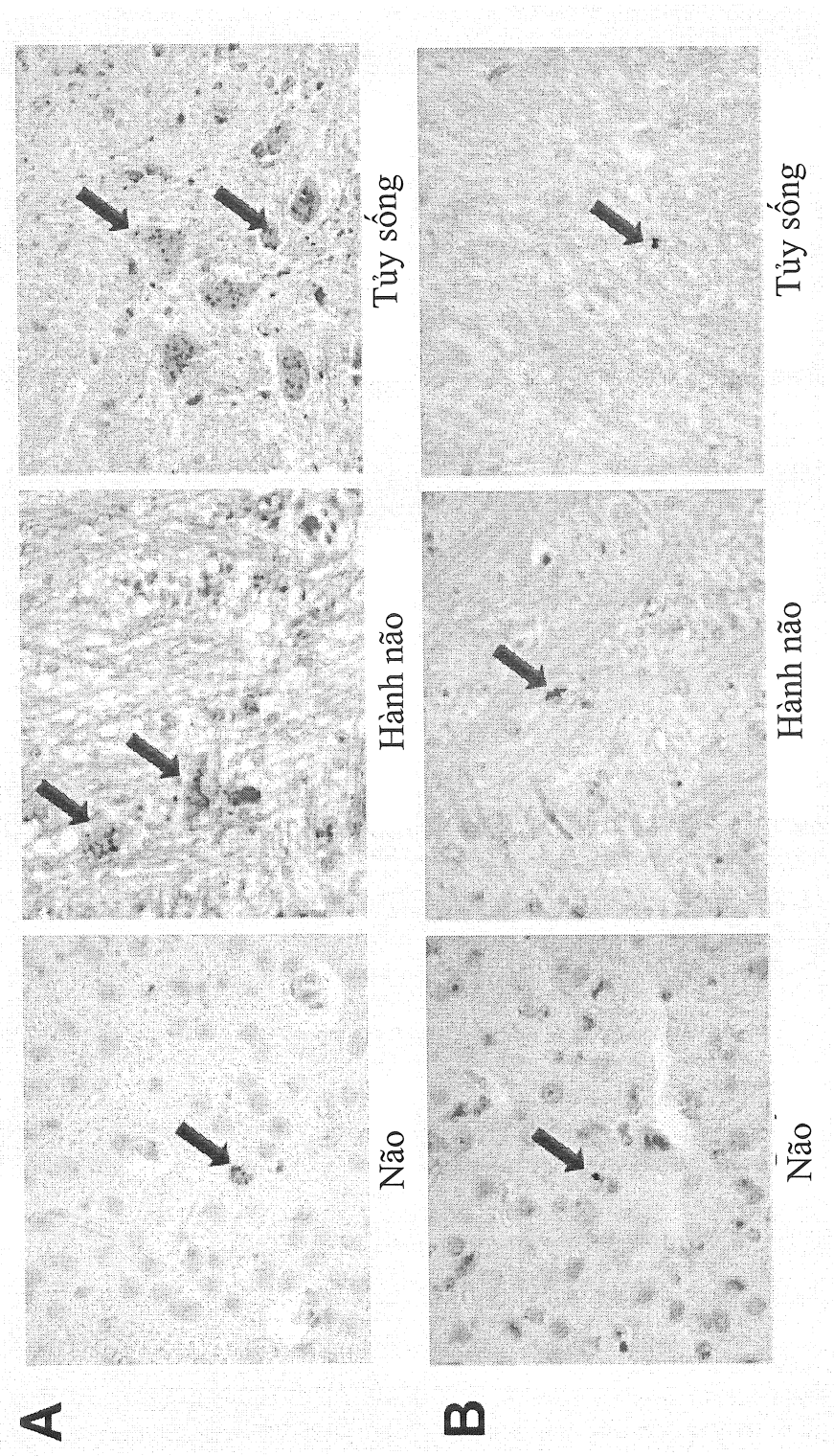


Fig. 21

23/34

RVA122:

VH: IGHV4-59*03 (95.09%), IGHJ6*02 (a) (88.71%), IGHD4-17*01

caggtgcacctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacct
gcactgtctct**GGTGACTCCATGAATAATTTCTAC**tggggctggatccggcagcccgcagggaa
gggactggagtggattggatat**ATCTATTACAGTGGGACCACC**aactacaacccctccctcaag
agtcgagtcaccatatcaatagacacgtccaagaaccaattctccctgaaggtgaactctgtga
ccgctgcggacacggccgtgtattattgt**GCGAGAGACTCCGGTGACTACGTCAGCTACTACTA**
TTATGGTATGGACGTCtggggcccagggaccacggtcaccgtctcctcag

QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**gdsmnnfy**WGWIRQPAGKGLEWIGY**iyysgtt**NYNPSLK
SRVTISIDTSKNQFSLKVNSVTAADTAVYYC**ardsgdyvsyyyygmdv**WGPGTTVTVSS

VL:

IGLV1-47*01 (94.04%), IGLJ3*02 (91.89%)

cagtctgtgctgactcagtcaccctcagcgtctgataccccgggcagagggtcaccatctctt
gttctggaagc**AGCTCCAACATCGGAAGTAATTAT**gtgtattggtaccagcagttcccaggaac
ggcccccaaactccttatttac**AAGAGTGAT**aagcggccctcaggggtccctgaccgattctct
ggctccacgtctggcacctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaagatgaggctg
attattactgt**GCAGCATGGGATAACAGGCTGAGTGGTTGGCTC**ttcggcggagggacgaagct
gaccgtcctag

QSVLTQSPSASDTPGQRVTISCSGS**ssnigsny**VYWYQQFPGTAPKLLIY**ksd**KRPSGVPDRFS
GSTSGTSASLAISGLRSEDEADYYC**aawdnrlsgwl**FGGGTKLTVL

Fig. 22

24/34

RVA144:

VH: IGHV4-39*01 (92.44%), IGHJ5*02 (84.31%), IGHD4-4*01

cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccctcggagaccctgtccctcactt
gcactgtctct**GGTGGTTCCATCAGCAGTACTATTTTCTAC**tggggctggatccgccagccccc
agggaagggactggagtggattgggagt**GTCTATTATAATGGACACACC**tactacaatccgtcc
ctcaagagtcgagtcgccatatccattgacaagtccaagaaccagttctccctgaggcttaact
ctgtgaccgccgcggacacggctgtatattactgt**GCGAGACCCTCAACATATGACTACAGTAT**
TGGGCGCtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**ggsisstifyWGWIRQPPGKGLEWIGSvyynghtYYNPS**
LKSRVAISIDKSKNQFSLRLNSVTAADTAVYYC**arpstydysigr**WGQGTLVTVSS

VL: IGLV1-40*01 (96.88%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 or IGLJ3*02 (91.67%)

cagtccgtgctgacgcagccgccctcagtgtctcgggccccagggcagagggtcaccatctcct
gcactgggagc**AGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGAT**gtccactggtaccagcaacttccagg
aacagcccccaaactcctcatctat**GGTAACACC**aagcggccctcaggggtccctgaccgattc
tctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcactgggctcctgactgaggatgagg
ctgattattactgc**cAGTCCTTTGACAGCAGCCTGAGTGCTTGGGTA**ttcggcggagggaccaa
actgaccgtcctgg

QSVLTQPPSVSRAPGQRVTISCTGS**ssnigagyd**VHWYQQLPGTAPKLLIY**gnt**KRPSGVPDRF
SGSKSGTSASLAITGLLTEDEADYYC**qsfdsslsawv**FGGGTKLTVL

Fig. 23

RVB185:

VH:
IGHV4-39*01 (88.85%), IGHJ4*02 (85.42%), IGHD3-9*01

caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacct
gcagtgtctcc**GGTGCCCCCGTCAGTGGTGTTAACTCCTAC**tgggtgtggatccgccagccccc
cgggaaggggctggagtggattgcgact**ATCAAGTACAGTGGGAGCACC**caccgtagcccgtcg
ctcaggagtcgagtcaccatatccgtagacacgtccaagaatcagttctccctggagctgagct
ctgtgaccgccgctgacacggctgtatattactgt**GCCAGACAAAGTACTATGACGGGCCGGGA**
CTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVS**gapvsgvnsy**WVWIRQPPGKGLEWIAT**ikysgst**HRSPS
LRSRVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYC**arqstmtgrdy**WGQGTLVTVSS

VL:
IGLV1-44*01 (95.09%), IGLJ3*02 (97.37%)

cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctctt
gttctggaagc**AGATCCAACATCGGAAGCCATCCT**gtaaactggtaccagcagctcccgggagc
ggcccccaagctcctcatctat**GGTGATAGT**cagcgaccctcaggggtccctgaccgattctct
ggctccaagtctggcccctcagcctccctggccatcagtggactccagtctgaagatgaggctg
attattactgt**GCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGCCTTTGGGTG**ttcggcggagggaccaa
gctgaccgtcctaa

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGS**rsnigshp**VNWYQQLPGAAPKLLIY**gds**QRPSGVPDRFS
GSKSGPSASLAISGLQSEDEADYYC**aawddslsglwv**FGGGTKLTVL

Fig. 24

RVB492:

VH-variant1: IGHV3-23*01, or IGHV3-23*04 or IGHV3-23*05 (90.28%), IGHJ4*02 (97.92%), IGHD3-10*01

gaggtgcagctgatggagtctgggggaggcctggtacagccgggggggtccatgagactctact
gtgcagcctct**GGATTCAGCTTTAGCAGCTATGCC**atgagctgggtccgccaggctccagggaa
ggggctcgagtgggtctcaagt**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**gactatgcagactccgtg
aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatttacaaatggacagcc
tgagagtcgaggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCGGTGAATT**
ATCCTGGAATTACTTTGACTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

EVQLMESGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVSS**lnsidhrt**DYADSV
KGRFTISRDNSKNTLYLQMDSLRVEDSAMYYC**argvglwfgelswnyfdy**WGQGTLVTVSS

VH-variant2: IGHV3-23*04 (90.24%), IGHJ4*02 (97.92%), IGHD3-10*01

gaggtgcagctggtgcagtctgggggaggcctggtacagccgggggggtccatgagactctact
gtgcagcctct**GGATTCAGCTTTAGCAGCTATGCC**atgagctgggtccgccaggctccagggaa
ggggctcgagtgggtctcaagt**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**gactatgcagactccgtg
aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatttacaaatggacagcc
tgagagtcgaggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCGGTGAATT**
ATCCTGGAATTACTTTGACTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

EVQLVQSGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVSS**lnsidhrt**DYADSV
KGRFTISRDNSKNTLYLQMDSLRVEDSAMYYC**argvglwfgelswnyfdy**WGQGTLVTVSS

VL: IGLV2-11*01 (96.88%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 (96.88%)

cagtctgccctgactcagcctcgctcagtgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcct
gcactggaacc**AGCAATGATATTGGTGGTTATAACTAT**gtctcctggtaccaacaacacccagg
caaagcccccaaactcatgatttttt**TATGTCAAT**aagcggccctcaggggtccctgatcgcttc
tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggatgaag
ctgattattactgc**TGCTCATTTGCAGGCAGTTACTCCTTA**ttcggcagagggaccaagctgac
cgtcctag

QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGT**sndiggyny**VSWYQQHPGKAPKLMIF**yvn**KRPSGVPDRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC**csfagsyslFGR**GTKLTVL

Fig. 25

RVC3:

VH: IGHV3-23*01 (90.97%), IGHJ4*02 (a) (93.75%), IGHD3-3*01

gaggtgcagctgttggagtctgggggaggcctggtgcagccgggggggtccctgagactctcct
gtgcagcctct**ACATTCACGTTTAGAAACTATGCC**atgtcctgggtccgccaggctccagggaa
ggggctggactgggtctcaggg**ATTAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG**aattatgcagcctccctg
aagggccgatttaccatctccagagacaattccaagaacacattgtatctgcaaatgaacagcc
tgagagccgaggacacggccgtctattactgt**GCGAAATTTGCTCACGATTTTTGGAGTGGTTA**
TTCTTACTTTGACTCCtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**tftfrnya**MSWVRQAPGKGLDWVSG**isasgsst**NYAASL
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**akfahdfwsgysyfds**WGQGTLVTVSS

VK: IGKV3-15*01 (98.21%), IGKJ5*01 (100%)

w
gaaatagtgatgacgcagtctccagccaccctgtctgtgtctccaggggaaagagccaccctct
cctgcagggccggt**CAGAGTGTTAACAGCAAC**ttagcctggtaccagcagaaacctgggcaggc
tcccagactcctcatctat**GGTGCATCC**accagggccactggtatcccagccaggttcagtggc
agtgggtctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgcagtctgaagattttgcagttt
attactgt**CAGCAGTATAATAATTGGGTTTCGATCACC**ttcggccaagggacacgactggagat
taaac

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAG**qsvnsn**LAWYQQKPGQAPRLLIY**gas**TRATGIPARFSG
SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC**qqynnwvsit**FGQGTRLEIK

Fig. 26

RVC20:

VH: IGHV4-31*06 (95.86%), IGHJ4*02 (89.58%), IGHD3-3*01

caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacct
gcactgtctcc**GGTGGCTCCTTCAGCAGTGGAAGTTACTCC**tggaactggatccgccagcaccc
agggaagggcctggagtggattgggtac**ATCTATTACAGTGGGAGCACT**tattacaacccgtcc
ctcaagagtcgagttaccatgtcagtacacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgaact
ctataactgccgcggacacggccgtgtattactgt**GCGAGAGGCACGTATTCCGATTTTTGGAG**
TGGTTCCCCTTTAGACTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS**ggsfssgsys**WNWIRQHPGKGLEWIGY**iyysgst**YYNPS
LKSRVTMSVHTSKNQFSLKLNSITAADTAVYYC**argtysdfwsgspldy**WGQGTLVTVSS

VK: IGKV1-16*01 (98.21%), IGKJ4*01 (100%)

gacatccagatgacccagtctccatcctcactgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgtcgggcgagt**CAGGGCATTAGCAATTAT**ttagcctggtttcagcagaaaccagggaaagc
ccctaagtccctgatctat**GCTGCATCC**agtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggc
agtggatctgggacagatttcactctcaccatcaacagcctgcagcctgaagattttgtaactt
atttctgc**CAACAGTATGATACTTACCCTCTCACT**ttcggcggagggaccaaggtggagatcaa
ac

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qgisny**LAWFQQKPGKAPKSLIY**aas**SLQSGVPSRFSG
SGSGTDFTLTINSLQPEDFVTYFC**qqydtypl**tFGGGTKVEIK

Fig. 27

RVC21:

VH: IGHV4-39*01 (92.78%), IGHJ5*01, or IGHJ5*02 (a) (80.39%), IGHD4-17*01

cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacgt
gcactgtctct**GGTGGCTCCATCAGCAACCCTAACTACTAC**tggggctggatccgccagccccc
agggaagggtctggaatggattgggagt**ATCTATTATAATGGGTACACC**tactacaacccgtcc
ctcaagagtcgagttaccatatccgtggacaagtccaaggaccagttctttctgaagatgacct
ctctgaccgccgcagacacggctgtgtattactgt**GCGACGCAATCTACGATGACTACCATAGC**
GGGCCACTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**ggsisnpnyy**WGWIRQPPGKGLEWIGS**iyyngyt**YYNPS
LKSRVTISVDKSKDQFFLKMTSLTAADTAVYYC**atqstmttiaghy**WGQGTLVTVSS

VL: IGLV1-51*01 (96.49%), IGLJ1*01 (100%)

cagtctgtattgacgcaggcgccctcagtgtctgcggccccaggactaaaggtcaccatctcct
gctctggaagc**ACATCCAACATTGGGAATTCTTAT**gtatcctggtaccagcagctcccaggaac
agcccccaaactcctcatttat**GACAATAAT**aagcgaccctcagggattcctgaccgattctct
ggctccaagtctgacacgtcagccaccctgggcatcaccggactccagactggggacgaggccg
attattactgc**GGAACATGGGACAGCAGCCTGAATGCTTATGTC**ttcggaactgggaccaaggt
caccgtcctag

QSVLTQAPSVSAAPGLKVTISCSGS**tsnignsy**VSWYQQLPGTAPKLLIY**dnn**KRPSGIPDRFS
GSKSDTSATLGITGLQTGDEADYYC**gtwdsslnayv**FGTGTKVTVL

Fig. 28

30/34

RVC38:

VH: IGHV1-69*06 (91.32%), IGHJ4*02 (85.42%), IGHD5-24*01

gaggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgagggtctcct
gcaaggcttct**ggaggcaccttcagcagctatgcc**atcagctgggtgcgacaggcccctgggct
agggcttgagtggatgggaggg**atcatgcctatgtttgtggcggca**aactacgcacagaacttc
cagggcagagtcacggtttctgtggacaaatccacgaacaccgcctatatggagatgcacaacc
tgagatctgacgacacggccatgtattactgt**gcgagaggggatggctacaattacaagtggta**
ttttgacctttggggccagggaaccctagtcaccgtctcctcag

EVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKAS**ggtfssya**ISWVRQAPGLGLEWMGG**impmfvaa**NYAQNF
QGRVTVSVDKSTNTAYMEMHNLRSDDTAMYYC**argdgynykwyfdl**WGQGTLVTVSS

VK: IGKV1-9*01 (96.06%), IGKJ4*01 (100%)

gacatccagttgacccagtctccatccttcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggccagt**caggacattagtaattat**ttagcctggtatcagcaaaaaccagggaagcc
ccctaaactcctgatctat**gctgcatcc**actttgcaaagggggtcccatcaaggttcagtggc
agtggatctgggtcagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaactt
attactgt**caacagcttgatacttacgtcgcgctcact**ttcggcggagggaccaaggtggagat
caaac

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRAS**qdisny**LAWYQQKPGKPPKLLIY**aas**TLQRGVPSRFSG
SGSGSEFTLTISSLQPEDFATYYC**qqldtyvalt**FGGGTKVEIK

Fig. 29

31/34

RVC44:

VH: IGHV3-21*01 (92.36%), IGHJ3*02 (86%), IGHD6-19*01

gaggtgcagctggtgcagtctgggggaggcctggtcaagcctgggggtccctgagactctcct
gtgcagcctct**GGCTTCACCTTTAGTAGTTATAGT**atgagttgggtccgccaggctccagggaa
gggcctggagtgggtctcatcc**ATCAGTACTACTGGTACTTACATA**tactacgcagactcagtg
gagggccgattctccatttccagagacagcgccaggagctctctgtttctgcaaatgaacagcc
tgagagccgaggacacggctgtctattactgt**GCGAGACGGTCGGCCATAGCACTGGCTGGTAC**
GCAGCGTGCTTTTGATATCtggggcccagggacaaacgtcatcgtctcttcag

EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAAS**gftfssys**MSWVRQAPGKGLEWVSS**isttgtyi**YYADSV
EGRFSISRDSARSSLFLQMNSLRAEDTAVYYC**arrsaialagtqrafdi**WGPGTNVIVSS

VK: IGKV1-39*01, or IGKV1D-39*01 (95.34%), IGKJ1*01 (100%)

gacatccagatgacccagtctccatcttccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagt**CAGAACATTAACAACTAT**ttaaattggtatcagcagaaactagggaaagc
ccctaagctcctgatctat**GCTGCATCC**agtttacatagtggggtcccatcaaggttcagtgcc
agtggatctgggacagatttcattctgaccatcagtaatctgcaacctgaagattgtgcaactt
actactgt**caacagagttacagtaacccttggacg**ttcggccaagggaccaaggtggaaatcaa
ac

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qninny**LNWYQQKLGKAPKLLIY**aas**SLHSGVPSRFSA
SGSGTDFILTISNLQPEDCATYYC**qqsysnpwt**FGQGTKVEIK

Fig. 30

RVC58:

VH: IGHV3-23*04 (96.18), IGHJ6*02 (a) (95.16%), IGHD2-15*01

gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtacagcctgggggtccctgagactctcct
gtgcggcctct**GGATTCACCTTTAGCACCTATGCC**atgaattgggtccgccaggctccagggaa
ggggctggagtgggtctcaggt**ATTAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA**tactacgcaggctccgtg
aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaaatgaacagcc
tgagagccgaggacacggccgtatattactgt**GCGAGAGATATTGCCCCCCCATATAACTACTA**
CTTCTACGGTATGGACGTCtggggccgagggaccacggtcaccgtctcctcag

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**gftfstya**MNWVRQAPGKGLEWVSG**isdrggsr**YYAGSV
KGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYC**ardiappynyyfygmdv**WGRGTTVTVSS

VL: IGLV2-14*01 (97.57%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 (94.44%)

cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcct
gcactggtacc**AGCAGTGACATTGGTGCTTTTAACTAT**gtctcttggtaccaacagcacccagg
caaagcccccaaactcataatttat**GAGGTCAGT**aatcggccctcaggggtttctaatcgcttc
tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgagg
ctgattattactgc**AACTCATATACAAGCAGCAGCACTCAGTTA**ttcggcggagggaccaagct
gaccgtcctag

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT**ssdigafny**VSWYQQHPGKAPKLIIY**evs**NRPSGVSNRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC**nsytssstql**FGGGTKLTVL

Fig. 31

33/34

RVC68:

VH: IGHV4-59*01 (92.63%), IGHJ6*03 (a) (88.71), IGHD4-17*01

caggtgcagctacaggagtcgggcccaagactggtgaagccctcggagaccctgtccctcacct
gcactttctct**GGTGGCTCCATTAGTGAGCACCAC**tggagctggctccggcagtccccagggaa
gggactggagtggattggatat**ATCTTTCACAGTGGGAGTACC**aactacaacccctccctcaag
agtcgagtcaacatatcattagacaagtccaagaaccagttctccctgaagctgagttctgtga
ccgctgcggacacggccgtgtatttctgt**GCGAGAGCGGTGTCTACTTACTACTACTATTACAT**
AGACGTCtggggccaagggaccacggtcaccgtctcctcag

QVQLQESGPRLVKPSETLSLTCTFS**ggsisehh**WSWLRQSPGKGLEWIGY**ifhsgst**NYNPSLK
SRVNISLDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFC**aravstyyyyyidv**WGQGTTVTVSS

VK: IGKV1-12*01, or IGKV1-12*02 or IGKV1D-12*02 (95.70%), IGKJ2*01, or IGKJ2*02 (94.44%)

gacatccagatgacccagtctccatcttccgtgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgtcgggcgagt**CAGGATATTAGCAACTGG**ttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagc
ccctaaactcctgatctat**GCTGCGTCC**agtttgcaaagtgggatctcatctaggttcagcggc
ggtggctctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaagtt
actactgt**CAACAGGCTAAGAGTTTCCCTCTTACT**tttggccaggggaccaagctggagatcaa
ac

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS**qdisnw**LAWYQQKPGKAPKLLIY**aas**SLQSGISSRFSG
GGSGTDFTLTISSLQPEDFASYYC**qqaksfplt**FGQGTKLEIK

Fig. 32

34/34

RVC111:

VH: IGHV3-30*04 (97.57%), IGHJ4*02 (93.75%) IGHD1-14*01

caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcct
gtgcagcctct**ggattctccttcagtagctatgtt**atgtactgggtccgccaggctccaggcaa
ggggctggagtgggtgacaatt**atatcatatgatggaagtaataaa**tactacgcagactccgtg
aagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcc
tgagagctgaggacacggctgtctattactgt**gcgagagggtccggaacccaaactcccctctt**
tgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFSFSSYV**MYWVRQAPGKGLEWVTI**ISYDGSNK**YYADSV
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARGSGTQTPLFDY**WGQGTLVTVSS

VK : IGKV1-5*01 (95.70%), IGKJ1*01 (94.74%)

gacatccagatgacccagtctccttccaccctgtctgcatctgtgggagacagagtcaccatca
cttgccgggccaat**cagagtattactagctgg**gtggcctggtatcagcagatgccagggagagc
ccctaaactcctgatctat**gatgactcc**actttggaaagtggggtcccatcaaggttcagcggc
agtggatctgggacagaattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaactt
attactgc**caacagtatgagagttattcagggacg**ttcggccaagggaccaaggtggaaatcaa
ac

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAN**QSITSW**VAWYQQMPGRAPKLLIY**DDS**TLESGVPSRFSG
SGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQYESYSGT**FGQGTKVEIK

Fig. 33

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Humabs BioMed SA

<120> KHÁNG THỂ ĐƯỢC PHÂN LẬP TRUNG HÒA VIRUT DẠI, DƯỢC PHẨM VÀ KIT CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> HB01P014WO1

<160> 218

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVA122

<400> 1

Gly Asp Ser Met Asn Asn Phe Tyr
1 5

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVA122

<400> 2

Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr
1 5

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVA122

<400> 3

Ala Arg Asp Ser Gly Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVA122

<400> 4

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
1 5

<210> 5

<400> 5
000

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVA122

<400> 6

Leu Ile Tyr Lys Ser Asp Lys Arg Pro
1 5

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVA122

<400> 7

Ala Ala Trp Asp Asn Arg Leu Ser Gly Trp Leu
1 5 10

<210> 8
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVA122

<400> 8
ggtgactcca tgaataattt ctac 24

<210> 9
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVA122

<400> 9
atctattaca gtgggaccac c 21

<210> 10
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVA122

<400> 10
gcgagagact ccggtgacta cgtcagctac tactattatg gtatggacgt c 51

<210> 11
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVA122

<400> 11
agctccaaca tcggaagtaa ttat 24

<210> 12

<400> 12
000

<210> 13
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVA122

<400> 13
cttatttaca agagtgataa gcggccc 27

<210> 14
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nucleotit CDRL3 của RVA122

<400> 14
gcagcatggg ataacaggct gagtggttgg ctc 33

<210> 15
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVA122

<400> 15

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Met Asn Asn Phe
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Val Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Ser Gly Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110

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

<210> 16
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVA122

<400> 16

Gln Ser Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ala Ser Asp Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 370
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVA122

<400> 17
caggtgcacc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtga ctccatgaat aatttctact ggggctggat ccggcagccc 120

gcagggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtgggaccac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca atagacacgt ccaagaacca attctccctg 240

aaggtgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgcgag agactccggt 300

gactacgtca gctactacta ttatggtatg gacgtctggg gcccagggac cacggtcacc 360

gtctcctcag 370

<210> 18
<211> 331
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVA122

<400> 18
cagtctgtgc tgactcagtc accctcagcg tctgataccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaattatg tgtattggta ccagcagttc 120

ccaggaacgg cccccaaact ccttatttac aagagtgata agcggccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctggctccac gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240

tccgaagatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggata acaggctgag tggttggctc 300

ttcggcggag ggacgaagct gaccgtccta g 331

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> RVA144 CDRH1 aa

<400> 19

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Thr Ile Phe Tyr
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVA144

<400> 20

Val Tyr Tyr Asn Gly His Thr
1 5

<210> 21
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> RVA144 CDRH3 aa

<400> 21

Ala Arg Pro Ser Thr Tyr Asp Tyr Ser Ile Gly Arg
1 5 10

<210> 22
<211> 9
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVA144

<400> 22

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
1 5

<210> 23

<400> 23
000

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVA144

<400> 24

Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Lys Arg Pro
1 5

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVA144

<400> 25

Gln Ser Phe Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
1 5 10

<210> 26
<211> 30
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit CDRH1 của RVA144

<400> 26
ggtggttcca tcagcagtac tattttctac 30

<210> 27
<211> 21
<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit CDRH2 của RVA144

<400> 27
gtctattata atggacacac c 21

<210> 28
<211> 36
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit CDRH3 của RVA144

<400> 28
gcgagaccct caacatatga ctacagtatt gggcgc 36

<210> 29
<211> 27
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit CDRL1 của RVA144

<400> 29
agctccaaca tcggggcagg ttatgat 27

<210> 30

<400> 30
000

<210> 31
<211> 27
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit dài CDRL2 của RVA144

<400> 31
ctcatctatg gtaacaccaa gcggccc 27

<210> 32
<211> 33
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucletit CDRL3 của RVA144

<400> 32

cagtcctttg acagcagcct gagtgcttgg gta 33

<210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVA144

<400> 33

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Val Tyr Tyr Asn Gly His Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Ala Ile Ser Ile Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg Pro Ser Thr Tyr Asp Tyr Ser Ile Gly Arg Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVA144

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

<210> 35
<211> 361
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVA144

<400> 35
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60

acttgcactg tctctggtgg ttccatcagc agtactattt tctactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaagggact ggagtggatt gggagtgtct attataatgg acacacctac 180

tacaatccgt ccctcaagag tcgagtcgcc atatccattg acaagtccaa gaaccagttc 240

tccctgaggc ttaactctgt gaccgccgcg gacacggctg tatattactg tgcgagaccc 300

tcaacatatg actacagtat tgggcgctgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

g 361

<210> 36
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVA144

<400> 36
cagtccgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctcgggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtccactg gtaccagcaa 120

cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca ccaagcggcc ctcaggggtc 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

ctgactgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctttg acagcagcct gagtgcttgg 300

gtattcggcg gagggaccaa actgaccgtc ctgg 334

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVB185

<400> 37

Gly Ala Pro Val Ser Gly Val Asn Ser Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVB185

<400> 38

Ile Lys Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 39
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVB185

<400> 39

Ala Arg Gln Ser Thr Met Thr Gly Arg Asp Tyr
1 5 10

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit amin CDRL1 của RVB185

<400> 40

Arg Ser Asn Ile Gly Ser His Pro
1 5

<210> 41

<400> 41
000

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVB185

<400> 42

Leu Ile Tyr Gly Asp Ser Gln Arg Pro
1 5

<210> 43
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVB185

<400> 43

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

<210> 44
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVB185

<400> 44
ggtgcccccg tcagtggtgt taactcctac 30

<210> 45
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nucleotit CDRH2 của RVB185

<400> 45
atcaagtaca gtgggagcac c 21

<210> 46
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVB185

<400> 46
gccagacaaa gtactatgac gggccgggac tac 33

<210> 47
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVB185

<400> 47
agatccaaca tcggaagcca tcct 24

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRH2 của RVB185

<400> 49
ctcatctatg gtgatagtca gcgaccc 27

<210> 50
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVB185

<400> 50
gcagcatggg atgacagcct gagtggcctt tgggtg 36

<210> 51
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVB185

<400> 51

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Ala Pro Val Ser Gly Val
20 25 30

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

Trp Ile Ala Thr Ile Lys Tyr Ser Gly Ser Thr His Arg Ser Pro Ser
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVB185

<400> 52

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 Arg Ser Asn Ile Gly Ser His
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Asp Ser 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

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

<210> 53
<211> 358
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVB185

<400> 53
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcagtg tctccggtgc ccccgtcagt ggtgttaact cctactgggt gtggatccgc 120

cagccccccg ggaaggggct ggagtggatt gcgactatca agtacagtgg gagcacccac 180

cgtagcccgt cgctcaggag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaatcagttc 240

tccctggagc tgagctctgt gaccgccgct gacacggctg tatattactg tgccagacaa 300

agtactatga cgggccggga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcag 358

<210> 54
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVB185

<400> 54
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tcttgttctg gaagcagatc caacatcgga agccatcctg taaactggta ccagcagctc 120

ccgggagcgg cccccaagct cctcatctat ggtgatagtc agcgaccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcccc tcagcctccc tggccatcag tggactccag 240

tctgaagatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag tggcctttgg 300

gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaa 334

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVB492

<400> 55

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVB492

<400> 56

Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr
1 5

<210> 57
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVB492

<400> 57

Ala Arg Gly Val Gly Leu Trp Phe Gly Glu Leu Ser Trp Asn Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVB492

<400> 58

Ser Asn Asp Ile Gly Gly Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 59

<400> 59
000

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVB492

<400> 60

Met Ile Phe Tyr Val Asn Lys Arg Pro
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit aminCDRL3 của RVB492

<400> 61

Cys Ser Phe Ala Gly Ser Tyr Ser Leu
1 5

<210> 62
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVB492

<400> 62
ggattcagct ttagcagcta tgcc 24

<210> 63
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVB492

<400> 63
cttaattcta ttgatcatag aaca 24

<210> 64
<211> 54
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVB492

<400> 64
gctcgggggg tgggactatg gttcggtgaa ttatcctgga attactttga ctac 54

<210> 65
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVB492

<400> 65
agcaatgata ttggtggtta taactat 27

<210> 66

<400> 66
000

<210> 67
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVB492

<400> 67
atgatttttt atgtcaataa gcggccc 27

<210> 68
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVB492

<400> 68
tgctcatttg caggcagtta ctcctta 27

<210> 69

<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng 1 của RVB492

<400> 69

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

Ser Met Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser 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 Ser Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 70
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng 2 của RVB492

<400> 70

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

Ser Met Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser 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 Ser Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 71
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVB492

<400> 71

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Ile 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 Phe Tyr Val Asn 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 Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Phe Ala Gly Ser
85 90 95

Tyr Ser Leu Phe Gly Arg Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 72
<211> 376
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 1 của RVB492

<400> 72
gaggtgcagc tgatggagtc tgggggaggc ctggtacagc cgggggggtc catgagactc 60

tactgtgcag cctctggatt cagctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctcgagtg ggtctcaagt cttaattcta ttgatcatag aacagactat 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240

ttacaaatgg acagcctgag agtcgaggac tcggccatgt attactgtgc tcgggggggtg 300

ggactatggt tcggtgaatt atcctggaat tactttgact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctcag 376

<210> 73
<211> 376
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 2 của RVB492

<400> 73
gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ctggtacagc cgggggggtc catgagactc 60

tactgtgcag cctctggatt cagctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctcgagtg ggtctcaagt cttaattcta ttgatcatag aacagactat 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240

ttacaaatgg acagcctgag agtcgaggac tcggccatgt attactgtgc tcgggggggtg 300

ggactatggt tcggtgaatt atcctggaat tactttgact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctcag 376

<210> 74
<211> 328
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVB492

<400> 74
cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagcaa tgatattggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacaa 120

cacccaggca aagcccccaa actcatgatt ttttatgtca ataagcggcc ctcaggggtc 180

cctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg atgaagctga ttattactgc tgctcatttg caggcagtta ctccttattc 300

ggcagaggga ccaagctgac cgtcctag 328

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC3

<400> 75

Thr Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala
1 5

<210> 76
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC3

<400> 76

Ile Ser Ala Ser Gly Ser Ser Thr
1 5

<210> 77
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC3

<400> 77

Ala Lys Phe Ala His Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Ser Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 78
<211> 6
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVC3

<400> 78

Gln Ser Val Asn Ser Asn
1 5

<210> 79

<400> 79
000

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRH2 của RVC3

<400> 80

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala
1 5

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC3

<400> 81

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Val Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 82
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC3

<400> 82
acattcacgt ttagaaacta tgcc 24

<210> 83
<211> 24
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC3

<400> 83
attagtgcta gtggtagtag cacg 24

<210> 84
<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC3

<400> 84
gcgaaatttg ctcacgattt ttggagtggt tattcttact ttgactcc 48

<210> 85
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC3

<400> 85
cagagtgtta acagcaac 18

<210> 86

<400> 86
000

<210> 87
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC3

<400> 87
ctcatctatg gtgcatccac cagggcc 27

<210> 88
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC3

<400> 88

cagcagtata ataattgggt ttcgatcacc 30

<210> 89
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC3

<400> 89

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

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

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

Ser Gly Ile Ser Ala Ser Gly Ser Ser Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Lys Phe Ala His Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Ser Tyr Phe Asp Ser
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 90
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC3

<400> 90

Glu Ile Val Met 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 Gly Gln Ser Val Asn Ser Asn
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Val Ser
85 90 95

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

<210> 91
<211> 370
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC3

<400> 91
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ctggtgcagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctacatt cacgtttaga aactatgcca tgtcctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggactg ggtctcaggg attagtgcta gtggtagtag cacgaattat 180

gcagcctccc tgaagggccg atttaccatc tccagagaca attccaagaa cacattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gaaatttgct 300

cacgattttt ggagtggtta ttcttacttt gactcctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctcag 370

<210> 92
<211> 325
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC3

<400> 92
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccggtca gagtgttaac agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120

gggcaggctc ccagactcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataatt gggtttcgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaac 325

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC3

<400> 93

Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly Ser Tyr Ser
1 5 10

<210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC3

<400> 94

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC3

<400> 95

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

<210> 96
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit amin CDRL1 của RVC3

<400> 96

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC3

<400> 98

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
1 5

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC3

<400> 99

Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 100
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC3

<400> 100
ggtggctcct tcagcagtgg aagttactcc 30

<210> 101
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nucleotit CDRH2 của RVC3

<400> 101
atctattaca gtgggagcac t 21

<210> 102
<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC3

<400> 102
gcgagaggca cgtattccga tttttggagt ggttcccctt tagactac 48

<210> 103
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC3

<400> 103
cagggcatta gcaattat 18

<210> 104

<400> 104
000

<210> 105
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC3

<400> 105
ctgatctatg ctgcatccag tttgcaa 27

<210> 106
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC3

<400> 106
caacagtatg atacttaccc tctcact 27

<210> 107
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC3

<400> 107

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly
20 25 30

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

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

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val His Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Ile Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

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

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC3

<400> 108

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

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

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

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

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

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

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

<210> 109
<211> 373
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC3

<400> 109
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctccggtgg ctccttcagc agtggaagtt actcctggaa ctggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacttat 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atgtcagtac acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgaactctat aactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaggc 300

acgtattccg atttttggag tggttcccct ttagactact ggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct cag 373

<210> 110
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC3

<400> 110
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg taacttattt ctgccaacag tatgatactt accctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa ac 322

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 RVC21

<400> 111

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

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 RVC21

<400> 112

Ile Tyr Tyr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 113
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 RVC21

<400> 113

Ala Thr Gln Ser Thr Met Thr Thr Ile Ala Gly His Tyr
1 5 10

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 RVC21

<400> 114

Thr Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr
1 5

<210> 115

<400> 115
000

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 RVC21

<400> 116

Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro
1 5

<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> laxit amin CDRL3 RVC21

<400> 117

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

<210> 118
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 RVC21

<400> 118
ggtggctcca tcagcaaccc taactactac 30

<210> 119
<211> 21
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 RVC21

<400> 119

atctattata atgggtacac c 21

<210> 120
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 RVC21

<400> 120
gcgacgcaat ctacgatgac taccatagcg ggccactac 39

<210> 121
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 RVC21

<400> 121
acatccaaca ttgggaattc ttat 24

<210> 122

<400> 122
000

<210> 123
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 RVC21

<400> 123
ctcatttatg acaataataa gcgaccc 27

<210> 124
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 RVC21

<400> 124
ggaacatggg acagcagcct gaatgcttat gtc 33

<210> 125
<211> 121
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC21

<400> 125

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

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

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

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

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

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

Cys Ala Thr Gln Ser Thr Met Thr Thr Ile Ala Gly His Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 126
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC21

<400> 126

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

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

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

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

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

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

Asn Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 127
<211> 364
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC21

<400> 127
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acgtgcactg tctctggtgg ctccatcagc aaccctaact actactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaagggtct ggaatggatt gggagtatct attataatgg gtacacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatccgtgg acaagtccaa ggaccagttc 240

tttctgaaga tgacctctct gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgacgcaa 300

tctacgatga ctaccatagc gggccactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tcag 364

<210> 128
<211> 331
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC21

<400> 128
cagtctgtat tgacgcaggc gccctcagtg tctgcggccc caggactaaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaagcacatc caacattggg aattcttatg tatcctggta ccagcagctc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctgacacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca gcagcctgaa tgcttatgtc 300

ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta g 331

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC38

<400> 129

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC38

<400> 130

Ile Met Pro Met Phe Val Ala Ala
1 5

<210> 131
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC38

<400> 131

Ala Arg Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 132
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVC38

<400> 132

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 133

<400> 133
000

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC38

<400> 134

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln
1 5

<210> 135
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC38

<400> 135

Gln Gln Leu Asp Thr Tyr Val Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 136
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC38

<400> 136
ggaggcacct tcagcagcta tgcc 24

<210> 137
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC38

<400> 137
atcatgccta tgtttgtggc ggca 24

<210> 138
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC38

<400> 138
gcgagagggg atggctacaa ttacaagtgg tattttgacc tt 42

<210> 139
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC38

<400> 139
caggacatta gtaattat 18

<210> 140

<400> 140
000

<210> 141
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC38

<400> 141
ctgatctatg ctgcatccac tttgcaa 27

<210> 142
<211> 30
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC38

<400> 142
caacagcttg atacttacgt cgcgctcact 30

<210> 143
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit amin chuỗi nặng của RVC38

<400> 143

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

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

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

Gly Gly Ile Met Pro Met Phe Val Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 144
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC38

<400> 144

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

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

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

<210> 145
<211> 364
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC38

<400> 145
gaggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgagggtc 60

tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcca tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctgggctag ggcttgagtg gatgggaggg atcatgccta tgtttgtggc ggcaaactac 180

gcacagaact tccagggcag agtcacggtt tctgtggaca aatccacgaa caccgcctat 240

atggagatgc acaacctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc gagaggggat 300

ggctacaatt acaagtggta ttttgacctt tggggccagg gaaccctagt caccgtctcc 360

tcag 364

<210> 146
<211> 325
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC38

<400> 146
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca ggacattagt aattatttag cctggtatca gcaaaaacca 120

gggaagcccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagggg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggtcagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttgatactt acgtcgcgct cactttcggc 300

ggagggacca aggtggagat caaac 325

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC44

<400> 147

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC44

<400> 148

Ile Ser Thr Thr Gly Thr Tyr Ile
1 5

<210> 149
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC44

<400> 149

Ala Arg Arg Ser Ala Ile Ala Leu Ala Gly Thr Gln Arg Ala Phe Asp
1 5 10 15

Ile

<210> 150
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVC44

<400> 150

Gln Asn Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 151

<400> 151
000

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC44

<400> 152

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC44

<400> 153

Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Pro Trp Thr
1 5

<210> 154
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC44

<400> 154
ggcttcacct ttagtagtta tagt 24

<210> 155
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC44

<400> 155
atcagtacta ctggtactta cata 24

<210> 156
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC44

<400> 156
gcgagacggt cggccatagc actggctggt acgcagcgtg cttttgatat c 51

<210> 157
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC44

<400> 157
cagaacatta acaactat 18

<210> 158

<400> 158
000

<210> 159
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC44

<400> 159
ctgatctatg ctgcatccag tttacat 27

<210> 160
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC44

<400> 160
caacagagtt acagtaaccc ttggacg 27

<210> 161
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC44

<400> 161

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Ser Ala Ile Ala Leu Ala Gly Thr Gln Arg Ala Phe Asp
100 105 110

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

<210> 162
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC44

<400> 162

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 Asn Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Cys Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Pro Trp
85 90 95

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

<210> 163
<211> 373
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC44

<400> 163
gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggctt cacctttagt agttatagta tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcatcc atcagtacta ctggtactta catatactac 180

gcagactcag tggagggccg attctccatt tccagagaca gcgccaggag ctctctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagacggtcg 300

gccatagcac tggctggtac gcagcgtgct tttgatatct ggggcccagg gacaaacgtc 360

atcgtctctt cag 373

<210> 164
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC44

<400> 164
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacta 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tacatagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg ccagtggatc tgggacagat ttcattctga ccatcagtaa tctgcaacct 240

gaagattgtg caacttacta ctgtcaacag agttacagta acccttggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

<210> 165
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC58

<400> 165

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC58

<400> 166

Ile Ser Asp Arg Gly Gly Ser Arg
1 5

<210> 167
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC58

<400> 167

Ala Arg Asp Ile Ala Pro Pro Tyr Asn Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVC58

<400> 168

Ser Ser Asp Ile Gly Ala Phe Asn Tyr
1 5

<210> 169

<400> 169
000

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC58

<400> 170

Ile Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro
1 5

<210> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC58

<400> 171

Asn Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Gln Leu
1 5 10

<210> 172
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC58

<400> 172
ggattcacct ttagcaccta tgcc 24

<210> 173
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC58

<400> 173
attagtgata gaggtggtag taga 24

<210> 174
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC58

<400> 174
gcgagagata ttgccccccc atataactac tacttctacg gtatggacgt c 51

<210> 175
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC58

<400> 175
agcagtgaca ttggtgcttt taactat 27

<210> 176

<400> 176
000

<210> 177
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL2 của RVC58

<400> 177
ataatttatg aggtcagtaa tcggccc 27

<210> 178
<211> 30
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC58

<400> 178
aactcatata caagcagcag cactcagtta 30

<210> 179
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC58

<400> 179

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 Thr Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ile Ala Pro Pro Tyr Asn Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Arg Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC58

<400> 180

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 Ile Gly Ala Phe
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 181
<211> 373
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC58

<400> 181
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcgg cctctggatt cacctttagc acctatgcca tgaattgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtgata gaggtggtag tagatactac 180

gcaggctccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatatt 300

gcccccccat ataactacta cttctacggt atggacgtct ggggccgagg gaccacggtc 360

accgtctcct cag 373

<210> 182
<211> 331
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nhẹ của RVC58

<400> 182
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gtaccagcag tgacattggt gcttttaact atgtctcttg gtaccaacag 120

cacccaggca aagcccccaa actcataatt tatgaggtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180

tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc aactcatata caagcagcag cactcagtta 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g 331

<210> 183
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1 của RVC68

<400> 183

Gly Gly Ser Ile Ser Glu His His
1 5

<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2 của RVC68

<400> 184

Ile Phe His Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 185
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3 của RVC68

<400> 185

Ala Arg Ala Val Ser Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ile Asp Val
1 5 10

<210> 186
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1 của RVC68

<400> 186

Gln Asp Ile Ser Asn Trp
1 5

<210> 187

<400> 187
000

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC68

<400> 188

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3 của RVC68

<400> 189

Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 190
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1 của RVC68

<400> 190
ggtggctcca ttagtgagca ccac 24

<210> 191
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC68

<400> 191
atctttcaca gtgggagtac c 21

<210> 192

<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3 của RVC68

<400> 192
gcgagagcgg tgtctactta ctactactat tacatagacg tc 42

<210> 193
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL1 của RVC68

<400> 193
caggatatta gcaactgg 18

<210> 194

<400> 194
000

<210> 195
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC68

<400> 195
ctgatctatg ctgcgtccag tttgcaa 27

<210> 196
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRL3 của RVC68

<400> 196
caacaggcta agagtttccc tcttact 27

<210> 197
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC68

<400> 197

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Gly Ser Ile Ser Glu His
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Phe His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Asn Ile Ser Leu Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Ala Val Ser Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ile Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 198
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC68

<400> 198

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ile Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Leu
85 90 95

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

<210> 199
<211> 361
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC68

<400> 199
caggtgcagc tacaggagtc gggcccaaga ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60

acctgcactt tctctggtgg ctccattagt gagcaccact ggagctggct ccggcagtcc 120

ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctttcaca gtgggagtac caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caacatatca ttagacaagt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt tctgtgcgag agcggtgtct 300

acttactact actattacat agacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

g 361

<210> 200
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC68

<400> 200
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggatattagc aactggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaagtgg gatctcatct 180

aggttcagcg gcggtggctc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caagttacta ctgtcaacag gctaagagtt tccctcttac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa ac 322

<210> 201
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH1của RVC111

<400> 201

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Val
1 5

<210> 202
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH2của RVC111

<400> 202

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 203
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRH3của RVC111

<400> 203

Ala Arg Gly Ser Gly Thr Gln Thr Pro Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL1của RVC111

<400> 204

Gln Ser Ile Thr Ser Trp
1 5

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin dài CDRL2 của RVC111

<400> 206

Leu Ile Tyr Asp Asp Ser Thr Leu Glu
1 5

<210> 207
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin CDRL3của RVC111

<400> 207

Gln Gln Tyr Glu Ser Tyr Ser Gly Thr
1 5

<210> 208
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH1của RVC111

<400> 208
ggattctcct tcagtagcta tgtt 24

<210> 209
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH2 của RVC111

<400> 209
atatcatatg atggaagtaa taaa 24

<210> 210
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit CDRH3của RVC111

<400> 210
gcgagagggt ccggaaccca aactcccctc tttgactac 39

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

<220>
<223> nucleotit CDRL1của RVC111

<400> 211
cagagtatta ctagctgg 18

<210> 212

<400> 212
000

<210> 213
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit dài CDRL2 của RVC111

<400> 213
ctgatctatg atgactccac tttggaa 27

<210> 214
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> RVC111 CDRL3 nuc

<400> 214
caacagtatg agagttattc agggacg 27

<210> 215
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nặng của RVC111

<400> 215

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 216
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC111

<400> 216

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

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

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

Tyr Asp Asp Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

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

<210> 217
<211> 361
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nucleotit chuỗi nặng của RVC111

<400> 217
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt ctccttcagt agctatgtta tgtactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatcatatg atggaagtaa taaatactac 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtct attactgtgc gagagggtcc 300

ggaacccaaa ctcccctctt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

g 361

<210> 218
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> axit amin chuỗi nhẹ của RVC111

<400> 218
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccaatca gagtattact agctgggtgg cctggtatca gcagatgcca 120

gggagagccc ctaaactcct gatctatgat gactccactt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatgagagtt attcagggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa ac 322