



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

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



1-0045138

(51)^{2006.01} C07K 16/18; C07K 16/40; A61K 39/00; (13) B
A61K 39/395

(21) 1-2018-04939

(22) 03/04/2017

(86) PCT/US2017/025784 03/04/2017

(87) WO/2017/176651 12/10/2017

(30) 62/317,897 04/04/2016 US

(45) 25/04/2025 445

(43) 27/05/2019 374A

(71) BIOVERATIV USA INC. (US)

951 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080, US

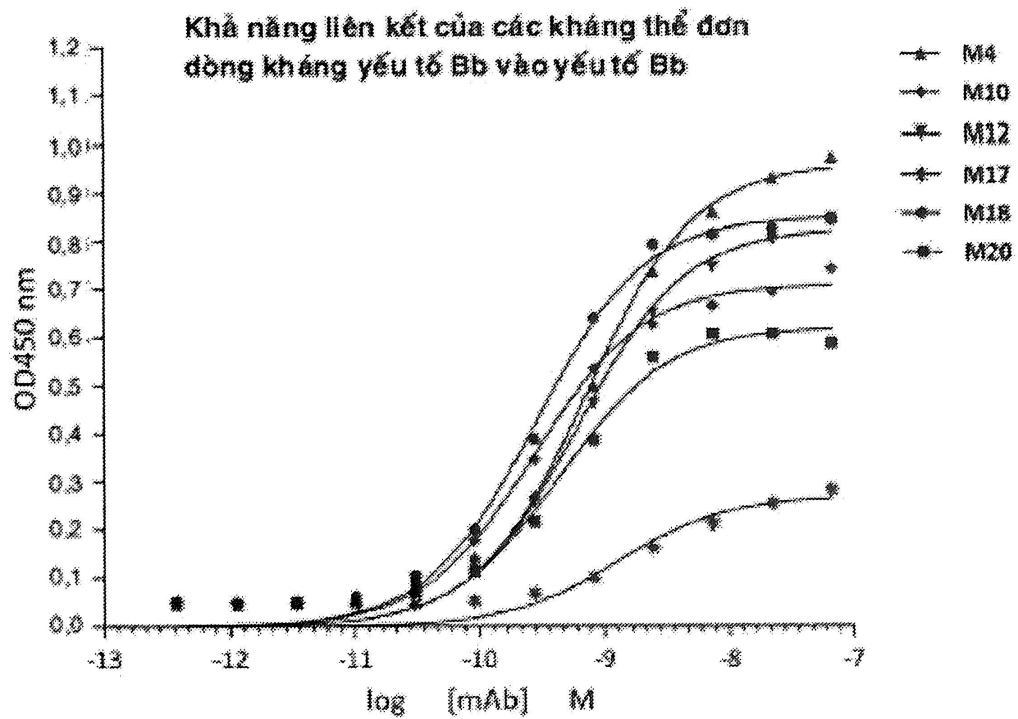
(72) PANICKER, Sandip (US); PARRY, Graham (US); CHRISTOPHERSON, Karen Sue (US); BYUN, Tony SangYoung (US).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG YẾU TỔ BỒ THỂ BB VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2018-04939

(57) Sáng chế này đề xuất các kháng thể kháng yếu tố bổ thể Bb, và các chế phẩm chứa các kháng thể này. Các kháng thể kháng Bb là hữu ích cho việc điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian. Sáng chế này đề xuất các phương pháp điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian.



Hình 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể được nhân tính hóa đặc hiệu đối với yếu tố bổ thể Bb, được phẩm chứa kháng thể này và vật chứa vô trùng chứa được phẩm này. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian ở cá thể cần đến phương pháp này và phương pháp ức chế khả năng liên kết yếu tố H vào C3b/Bb ở cá thể cần đến phương pháp này bằng kháng thể và được phẩm chứa kháng thể này nêu trên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ thống bổ thể là một phần của hệ miễn dịch bẩm sinh. Vai trò chính yếu của nó là để “bổ sung” khả năng của các kháng thể và các tế bào thực bào trong việc dọn sạch các mầm bệnh có hại khỏi sinh vật. Tuy nhiên, sự hoạt hóa lệch lạc của hệ thống bổ thể xảy ra và gây tác hại cho mô vật chủ trong một loạt rất nhiều hoàn cảnh bệnh lý, nằm trong khoảng từ bệnh tự miễn dịch đến tình trạng cấy ghép cơ quan. Một số liệu pháp kháng bổ thể thì đang trong quá trình phát triển lâm sàng để phòng ngừa sự hư hại do quá trình hoạt hóa lệch lạc hệ thống bổ thể gây ra.

Hệ thống bổ thể bao gồm ba con đường hoạt hóa phía đầu nguồn tách biệt, tất cả hội tụ về một con đường tận cùng chung. Hai con đường trong số các con đường này được kích thích bằng các cơ chế khác biệt và cụ thể: con đường cổ điển (classical pathway-CP) bắt đầu tham gia khi các kháng thể liên kết vào các kháng nguyên, và con đường lectin (lectin pathway-LP) được hoạt hóa bằng các gốc carbohydrat trên bề mặt của các mầm bệnh. Con đường thay thế khác (alternative pathway-AP) là độc đáo ở chỗ nó hoạt động một cách liên tục ở mức đáy, được gọi là “hoạt động chạy không của AP”; có thể làm tăng mạnh hoạt tính của nó bằng một loạt tín hiệu trên các bề mặt ngoại lai và các tế bào bị hư hại thông qua vòng khuếch đại hồi tiếp dương tính. Yếu tố thúc đẩy chính yếu của vòng khuếch đại AP là AP convertaza (C3bBb). Enzym này được tạo ra khi tiền enzym yếu tố B được phân cắt để tạo ra sản phẩm tách fBb, phần này kết hợp một cách nhanh chóng với C3b đã được liên kết vào bề mặt để tạo enzym có hoạt tính

C3bBb. Sau đó, C3bBb tiếp tục phân cắt các phân tử phụ thêm của protein C3 trung tâm, dẫn đến quá trình tạo các opsonin (C3b, iC3b), các độc tố phản vệ (C3a và C5a) và phức hợp phân giải tận cùng (MAC; C5b-9).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế này đề xuất các kháng thể kháng yếu tố bổ thể Bb, và các chế phẩm chứa các kháng thể này. Các kháng thể kháng Bb là hữu ích cho việc điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian. Sáng chế này đề xuất các phương pháp điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian.

Sáng chế này đề xuất kháng thể được nhân tính hóa đặc hiệu đối với yếu tố bổ thể Bb, trong đó kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm: a) kháng thể bao gồm các vùng quyết định tính bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (VL) kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7; b) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của chuỗi nặng (VH) kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; c) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15; d) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; e) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23; f) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; g) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31; h) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; i) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO: 39; j) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; k) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47; và l) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48. Trong một số trường hợp, kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm: a) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; b) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao

gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; c) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; d) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; e) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; và f) kháng thể bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng VL của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và các CDR của chuỗi nặng của vùng VH của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48. Sáng chế này đề xuất kháng thể được nhân tính hóa đặc hiệu đối với yếu tố bổ thể Bb, trong đó kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm: a) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3; b) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; c) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11; d) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; e) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19; f) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; g) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, và SEQ ID NO:27; h) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, và SEQ ID NO:30; i) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, và SEQ ID NO:35; j) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, và SEQ ID NO:38; k) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, và SEQ ID NO:43; và l) kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:45, và SEQ ID NO:46. Trong một số trường hợp, kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm: a) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ

ID NO:1, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:2, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:3, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:4, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:5, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:6; b) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:9, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:10, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:11, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:12, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:13, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:14; c) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:17, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:18, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:19, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:20, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:21, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:22; d) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:25, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:26, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:27, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:28, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:29, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:30; e) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:33, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:34, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:35, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:36, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:37, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:38; và f) kháng thể bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:41, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:42, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:43, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:44, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:45, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:46. Trong một số trường hợp, kháng thể này liên kết protein Bb bổ thể của người với ái lực là ít nhất 10^{-8} M. Trong một số trường hợp, kháng thể này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian. Trong một số trường hợp, kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa và vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm monome Ig, đoạn Fab, đoạn F(ab')₂, đoạn Fd, scFv, scAb, dAb, Fv, kháng thể chỉ có chuỗi nặng miền đơn lẻ, và kháng thể chỉ có chuỗi nhẹ miền đơn lẻ. Trong một số trường hợp, kháng thể này bao gồm vùng chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở các polypeptit tách biệt. Trong một số trường hợp, kháng thể này bao gồm vùng chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở một polypeptit đơn lẻ.

Sáng chế này đề xuất được phẩm chứa kháng thể như được mô tả trong đoạn văn trước, hoặc nơi khác trong bản mô tả này; và tá được được dụng. Sáng chế này đề xuất vật chứa vô trùng chứa được phẩm này.

Sáng chế này đề xuất phương pháp ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian ở cá thể cần đến phương pháp này, phương pháp này bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của kháng thể như được mô tả trên đây, hoặc nơi khác trong bản mô tả này, hoặc một lượng hữu hiệu của được phẩm như được mô tả trên đây, hoặc nơi khác trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là dưới da. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là trong cơ. Sáng chế này đề xuất phương pháp điều trị cá thể có bệnh hoặc rối loạn do bổ thể làm trung gian, phương pháp này bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của kháng thể như được mô tả trên đây, hoặc nơi khác trong bản mô tả này, hoặc một lượng hữu hiệu của được phẩm như được mô tả trên đây, hoặc nơi khác trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là dưới da. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng đã nêu là trong cơ. Trong một số trường hợp, phương thức cho dùng này đem lại một kết quả được chọn lựa từ nhóm gồm: a) sự ức chế hoạt tính của con đường thay thế khác của bổ thể (AP); b) sự ức chế quá trình hình thành phức hợp tấn công màng; c) sự ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian; d) làm giảm mức của C3a và/hoặc C3b trong chất dịch hoặc mô; e) sự ức chế quá trình phân cắt yếu tố B; f) sự ức chế hiện tượng phân giải tế bào do AP làm trung gian; g) sự ức chế chứng tán huyết do AP làm trung gian; h) sự ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô; i) sự ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các hồng cầu; j) làm giảm lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể; k) làm giảm lượng của yếu tố Bb trong huyết tương ở cá thể; và l) sự ức chế quá trình sản xuất độc tố phản vệ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: trình bày khả năng liên kết của các kháng thể đơn dòng (mAb) kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb của người bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA).

Hình 2: trình bày EC50 của khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào

yếu tố Bb.

Hình 3: trình bày tỷ lệ của khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb tan được so với yếu tố B tan được.

Hình 4: trình bày tỷ lệ của khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb tan được so với yếu tố B tan được; và khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố B bằng sắc ký loại trừ theo kích cỡ.

Hình 5: trình bày ái lực liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb và yếu tố B của khi đuôi dài.

Hình 6: trình bày sự ức chế hoạt tính của con đường thay thế khác của bổ thể (AP) (như được xác định bằng cách sử dụng kit ELISA của Wieslab) bằng các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 7: trình bày sự ức chế chứng tán huyết hồng cầu của thỏ do AP làm trung gian bởi các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 8: trình bày sự ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các hồng cầu của thỏ (RBC) bởi các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 9: trình bày sự ức chế hoạt tính AP của bổ thể bởi các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 10: trình bày sự ức chế hoạt tính AP của bổ thể của khi đuôi dài và hoạt tính AP của bổ thể của người (kit ELISA của Wieslab) bởi mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 11: trình bày sự ức chế chứng tán huyết hồng cầu của thỏ do AP khi đuôi dài làm trung gian bởi các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 12A-12F: đưa ra Bảng 1, bảng này đưa ra các trình tự axit amin của vùng VH và vùng VL, cũng như các vùng quyết định tính bổ trợ (CDR) của các ví dụ về các mAb kháng Bb theo sáng chế này.

Hình 13: đưa ra một trình tự axit amin của yếu tố Bb của người (SEQ ID NO:49).

Hình 14 trình bày sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bởi các kháng thể kháng yếu tố Bb theo sáng chế này đối với các RBC của người được điều trị trước bằng các kháng thể CD55/CD59.

Hình 15: trình bày sự ức chế con đường thay thế khác của bổ thể (AP) bởi các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb là M10 thể khảm và M4 thể khảm.

Hình 16: trình bày sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bởi kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb là M10 thể khảm trên các RBC từ bệnh nhân có bệnh huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm (Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria-PNH).

Hình 17: trình bày dược động học (pharmacokinetics-PK) của các kháng thể thể khả kháng yếu tố Bb là M10 thể khả và M4 thể khả ở khi đuôi dài.

Hình 18: trình bày dược lực học (pharmacodynamics-PD) của kháng thể thể khả M10 kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài.

Hình 19: trình bày dược lực học của kháng thể thể khả M4 kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài.

Hình 20: trình bày sự suy thoái C3 do M4 thể khả kháng yếu tố Bb thể khả kích thích trong huyết thanh của người *in vitro*.

Hình 21: trình bày sự suy thoái C3 do M10 thể khả kháng yếu tố Bb thể khả kích thích (ô trên) và sự suy thoái C3 do M4 thể khả kháng yếu tố Bb thể khả kích thích (ô dưới) ở khi đuôi dài *in vivo*.

Hình 22: trình bày sự phong bế của kháng thể M4 kháng yếu tố Bb đối với hoạt tính Yếu tố Tăng tốc Hiện tượng Phân rã (Decay Accelerating Factor-DAF) của yếu tố H.

Hình 23: trình bày tác dụng của M4 kháng yếu tố Bb đối với hoạt tính DAF của CD55.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Các thuật ngữ “các kháng thể” và “globulin miễn dịch” bao gồm các kháng thể hoặc các globulin miễn dịch thuộc kiểu tương đương bất kỳ, các đoạn của các kháng thể mà giữ lại khả năng liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đoạn Fab, Fv, scFv, và Fd, các kháng thể thể khả, các kháng thể được nhân tính hóa, các kháng thể chuỗi đơn lẻ (scAb), các kháng thể miền đơn lẻ (dAb), các kháng thể chuỗi nặng miền đơn lẻ, các kháng thể chuỗi nhẹ miền đơn lẻ, các kháng thể song đặc hiệu, các kháng thể đa đặc hiệu, và các protein dung hợp bao gồm phân liên kết vào kháng nguyên (còn được gọi trong bản mô tả này là phân liên kết kháng nguyên) của kháng thể và protein không kháng thể. Các kháng thể có thể được đánh dấu theo kiểu có thể phát hiện được, ví dụ, bằng chất đồng vị phóng xạ, enzym mà tạo ra sản phẩm có thể phát hiện được, protein huỳnh quang, và các chất tương tự. Các kháng thể còn có thể được tiếp hợp với các gốc khác, như các thành viên của các cặp liên kết đặc hiệu, ví dụ, biotin (thành viên của cặp liên kết đặc hiệu biotin-avidin), và các chất tương tự. Các kháng thể cũng có thể được liên kết vào giá đỡ rắn, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn

ở, các hạt hoặc tấm polystyren, và các vật liệu tương tự. Cũng được bao quát bởi thuật ngữ này là Fab', Fv, F(ab')₂, và/hoặc các đoạn kháng thể khác mà giữ lại khả năng liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên, và các kháng thể đơn dòng. Như được sử dụng trong bản mô tả này, kháng thể đơn dòng là kháng thể được tạo ra bằng nhóm gồm các tế bào đồng nhất, tất cả các tế bào này được tạo ra từ một tế bào đơn lẻ bằng phương pháp sao chép tế bào lặp lại. Đó là, dòng vô tính của các tế bào chỉ tạo ra một loại kháng thể đơn lẻ. Trong khi kháng thể đơn dòng có thể được sản xuất bằng cách sử dụng công nghệ sản xuất khỏi tế bào lai, thì các phương pháp sản xuất khác đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng (ví dụ, các kháng thể được tạo ra từ các thư viện thể hiện thể thực khuẩn kháng thể). Kháng thể có thể là có hóa trị một hoặc có hóa trị hai. Kháng thể có thể là monome Ig, đây là một phân tử "có hình chữ Y" mà gồm bốn chuỗi polypeptit: hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ được kết nối bằng liên kết disulfua.

Thuật ngữ "globulin miễn dịch được nhân tính hóa" như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ globulin miễn dịch bao gồm các phần của các globulin miễn dịch có nguồn gốc khác nhau, trong đó ít nhất một phần bao gồm các trình tự axit amin có nguồn gốc từ người. Ví dụ, kháng thể được nhân tính hóa có thể bao gồm các phần được tạo ra từ globulin miễn dịch có nguồn gốc không phải từ người có tính đặc hiệu cần thiết, như chuột, và từ các trình tự globulin miễn dịch có nguồn gốc từ người (ví dụ, globulin miễn dịch thể khảm), được nối liền với nhau về phương diện hóa học bằng các kỹ thuật thông thường (ví dụ, tổng hợp) hoặc được điều chế ở dạng polypeptit liên tiếp bằng cách sử dụng các kỹ thuật xử lý gen (ví dụ, ADN mã hóa các phần protein của kháng thể thể khảm có thể được biểu hiện để tạo ra chuỗi polypeptit liên tiếp). Một ví dụ khác về globulin miễn dịch được nhân tính hóa là globulin miễn dịch chứa một hoặc nhiều chuỗi globulin miễn dịch bao gồm CDR được tạo ra từ kháng thể có nguồn gốc không phải từ người và vùng khung được tạo ra từ chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng có nguồn gốc từ người (ví dụ, các kháng thể được ghép CDR có hoặc không có dạng thay đổi khung). Các kháng thể chuỗi đơn lẻ được ghép CDR hoặc thể khảm thì cũng được bao quát bởi thuật ngữ globulin miễn dịch được nhân tính hóa. Ví dụ, xem tài liệu: Cabilly et al., Patent Mỹ số 4,816,567; Cabilly et al., Patent Châu Âu số 0,125,023 B1; Boss et al., Patent Mỹ số 4,816,397; Boss et al., Patent Châu Âu số 0,120,694 B1; Neuberger, M. S. et al., WO 86/01533; Neuberger, M. S. et al., Patent Châu Âu số 0,194,276 B1; Winter, Patent Mỹ số 5,225,539; Winter, Patent Châu Âu số 0,239,400 B1;

Padlan, E. A. et al., Đơn yêu cầu cấp Patent Châu Âu số 0,519,596 A1. Xem thêm tài liệu: Ladner et al., Patent Mỹ số 4,946,778; Huston, Patent Mỹ số 5,476,786; và Bird, R. E. et al., *Science*, 242: 423-426 (1988)), liên quan đến các kháng thể chuỗi đơn lẻ.

Ví dụ, các globulin miễn dịch được nhân tính hóa có thể được sản xuất bằng cách sử dụng axit nucleic tổng hợp và/hoặc axit nucleic tái tổ hợp để điều chế các gen (ví dụ, ADN bổ trợ) mã hóa chuỗi được nhân tính hóa mong muốn. Ví dụ, các trình tự axit nucleic (ví dụ, ADN) ghi mã cho các vùng biến đổi được nhân tính hóa có thể được kiến tạo bằng cách sử dụng các phương pháp gây đột biến PCR để thay đổi các trình tự ADN mã hóa chuỗi của người hoặc chuỗi được nhân tính hóa, như khuôn mẫu ADN từ vùng biến đổi được nhân tính hóa trước (ví dụ, xem tài liệu: Kamman, M., et al., *Nucl. Acids Res.*, 17: 5404 (1989)); Sato, K., et al., *Cancer Research*, 53: 851-856 (1993); Daugherty, B. L. et al., *Nucleic Acids Res.*, 19(9): 2471-2476 (1991); và Lewis, A. P. và J. S. Crowe, *Gene*, 101: 297-302 (1991)). Bằng cách sử dụng các phương pháp này hoặc các phương pháp thích hợp khác, cũng có thể tạo ra các biến thể một cách dễ dàng. Ví dụ, các vùng biến đổi được tạo dòng vô tính có thể được gây đột biến, và các trình tự mã hóa các biến thể có tính đặc hiệu mong muốn có thể được chọn lựa (ví dụ, từ thư viện thể thực khuẩn; ví dụ, xem tài liệu: Krebber et al., Patent Mỹ số 5,514,548; Hoogenboom et al., WO 93/06213, được công bố ngày 1 tháng 4 năm 1993)).

“Các đoạn kháng thể” bao gồm một phần của kháng thể nguyên vẹn, ví dụ, vùng liên kết kháng nguyên hoặc vùng biến đổi của kháng thể nguyên vẹn. Các ví dụ về đoạn kháng thể bao gồm các đoạn Fab, Fab', F(ab')₂, và Fv; các song thể; các kháng thể tuyến tính (Zapata et al., *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 (1995)); các kháng thể miền (dAb; Holt et al. (2003) *Trends Biotechnol.* 21:484); các phân tử kháng thể chuỗi đơn lẻ; và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các đoạn kháng thể. Quá trình phân giải bằng papain các kháng thể tạo ra hai đoạn liên kết kháng nguyên đồng nhất, được gọi là các đoạn “Fab”, mỗi đoạn có một vị trí liên kết kháng nguyên đơn lẻ, và đoạn “Fc” tồn dư, một tên gọi phản ánh khả năng kết tinh một cách dễ dàng. Quá trình xử lý pepsin thu được đoạn F(ab')₂ mà có hai vị trí kết hợp kháng nguyên và vẫn có khả năng liên kết ngang kháng nguyên.

“Fv” là đoạn kháng thể tối thiểu mà chứa vị trí nhận biết kháng nguyên và vị trí liên kết kháng nguyên hoàn chỉnh. Vùng này gồm dime của một miền biến đổi của chuỗi nặng và một miền biến đổi của chuỗi nhẹ trong dạng kết hợp không cộng hóa trị, chặt

chẽ. Chính trong dạng kết cấu này mà ba CDR của mỗi miền biến đổi tương tác để định ranh giới vị trí liên kết kháng nguyên trên bề mặt của dime V_H - V_L . Xét chung thì, sáu CDR đem lại tính đặc hiệu liên kết kháng nguyên cho kháng thể. Tuy nhiên, thậm chí một miền biến đổi đơn lẻ (hoặc một nửa của Fv bao gồm chỉ ba CDR đặc hiệu đối với kháng nguyên) có khả năng nhận biết và liên kết kháng nguyên, mặc dù ở ái lực thấp hơn so với toàn bộ vị trí liên kết.

Đoạn “Fab” cũng chứa miền hằng định của chuỗi nhẹ và miền hằng định thứ nhất (CH_1) của chuỗi nặng. Các đoạn Fab khác biệt với các đoạn Fab' bằng cách bổ sung một ít gốc ở đầu tận cùng carboxyl của miền CH_1 của chuỗi nặng bao gồm cả một hoặc nhiều xystein từ vùng bản lề của kháng thể. Fab'-SH là tên gọi trong bản mô tả này dùng cho Fab' mà trong đó (các) gốc xystein của các miền hằng định mang nhóm thiol tự do. Các đoạn kháng thể $F(ab')_2$ ban đầu được tạo ra ở dạng cặp của các đoạn Fab' mà có các xystein bản lề giữa chúng. Các phương pháp liên hợp hóa học khác của các đoạn kháng thể thì cũng đã biết.

“Các chuỗi nhẹ” của các kháng thể (các globulin miễn dịch) từ loài động vật có xương sống bất kỳ có thể được gán cho một trong hai loại khác biệt một cách rõ ràng, được gọi là kappa và lambda, dựa trên các trình tự axit amin của các miền hằng định của chúng. Tùy thuộc vào trình tự axit amin của miền hằng định của chuỗi nặng của chúng, các globulin miễn dịch có thể được gán cho các nhóm khác nhau. Có năm nhóm chính của các globulin miễn dịch: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM, và một vài nhóm trong số các nhóm này có thể được chia thêm thành phân nhóm (các kiểu tương đương), ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, và IgA2. Phân nhóm có thể được chia thêm thành các loại, ví dụ, IgG2a và IgG2b.

Các đoạn kháng thể “Fv chuỗi đơn lẻ” hoặc “sFv” hoặc “scFv” bao gồm các miền V_H và V_L của kháng thể, trong đó các miền này là có mặt ở một chuỗi polypeptit đơn lẻ. Trong một số trường hợp, polypeptit Fv còn bao gồm gốc liên kết polypeptit giữa các miền V_H và V_L , phần này giúp cho sFv tạo được cấu trúc mong muốn cho khả năng liên kết kháng nguyên. Để tìm hiểu về sFv, xem tài liệu: *Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).*

Thuật ngữ “các song thể” được dùng để chỉ các đoạn kháng thể nhỏ có hai vị trí liên kết kháng nguyên, các đoạn này bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng (V_H) được

kết nối vào miền biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) trong cùng một chuỗi polypeptit (V_H - V_L). Bằng cách sử dụng một gốc liên kết mà quá ngắn nên không cho phép ghép cặp giữa hai miền trên cùng một chuỗi, nên các miền này buộc phải ghép cặp với các miền bổ trợ của một chuỗi khác và tạo ra hai vị trí liên kết kháng nguyên. Ví dụ, các song thể được mô tả một cách đầy đủ hơn trong tài liệu: EP 404,097; WO 93/11161; và Hollinger et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “ái lực” được dùng để chỉ hằng số cân bằng dùng cho khả năng liên kết có thể đảo ngược được của hai chất (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên) và được biểu đạt ở dạng hằng số phân ly (K_D). Ái lực có thể là lớn hơn ái lực của kháng thể đối với các trình tự axit amin không liên quan ít nhất 1 lần, ít nhất 2 lần, ít nhất 3 lần, ít nhất 4 lần, ít nhất 5 lần, ít nhất 6 lần, ít nhất 7 lần, ít nhất 8 lần, ít nhất 9 lần, ít nhất 10 lần, ít nhất 20 lần, ít nhất 30 lần, ít nhất 40 lần, ít nhất 50 lần, ít nhất 60 lần, ít nhất 70 lần, ít nhất 80 lần, ít nhất 90 lần, ít nhất 100 lần, hoặc ít nhất 1.000 lần, hoặc lớn hơn nữa. Ái lực của kháng thể đối với protein đích có thể là, ví dụ, từ khoảng 100 nanomol (nM) đến khoảng 0,1 nM, từ khoảng 100 nM đến khoảng 1 picomol (pM), hoặc từ khoảng 100 nM đến khoảng 1 femtomol (fM) hoặc lớn hơn nữa. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “ái tính” được dùng để chỉ sức đề kháng của phức hợp của hai hoặc nhiều chất hơn nữa đối với sự phân ly sau khi pha loãng. Các thuật ngữ “có tính phản ứng miễn dịch” và “liên kết ưu tiên” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này liên quan đến các kháng thể và/hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên.

Thuật ngữ “khả năng liên kết” được dùng để chỉ sự kết hợp trực tiếp giữa hai phân tử, ví dụ, do các tương tác cộng hóa trị, tĩnh điện, kỵ nước, và ion và/hoặc liên kết hydro, bao gồm cả các tương tác như liên kết cầu muối và liên kết cầu nước. Kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết đặc hiệu vào epitop trong protein Bb bổ thể. “Khả năng liên kết đặc hiệu” được dùng để chỉ khả năng liên kết với ái lực là ít nhất khoảng 10^{-7} M hoặc lớn hơn nữa, ví dụ, 5×10^{-7} M, 10^{-8} M, 5×10^{-8} M, và lớn hơn nữa. “Khả năng liên kết không đặc hiệu” được dùng để chỉ khả năng liên kết với ái lực là nhỏ hơn khoảng 10^{-7} M, ví dụ, khả năng liên kết với ái lực là 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, v.v.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “CDR” hoặc “vùng quyết định tính bổ trợ” được dự định là có ý chỉ các vị trí kết hợp kháng nguyên không liên tiếp được tìm thấy trong vùng biến đổi của cả polypeptit chuỗi nặng và polypeptit chuỗi nhẹ. Các CDR đã được mô tả bởi tài liệu: Lefranc et al. (2003) *Developmental and*

Comparative Immunology 27:55 (còn được gọi trong bản mô tả này là “Lefranc 2003”); Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991) (còn được gọi trong bản mô tả này là Kabat 1991); bởi Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) (còn được gọi trong bản mô tả này là Chothia 1987); và MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996), trong đó các định nghĩa này bao gồm dạng chồng lẫn hoặc phân nhóm của các gốc axit amin khi so sánh với nhau. Tuy nhiên, việc áp dụng một trong hai định nghĩa này để chỉ CDR của kháng thể hoặc các kháng thể được ghép hoặc các biến thể của chúng được dự định là trong phạm vi của thuật ngữ này như được định nghĩa và được sử dụng trong bản mô tả này. Các gốc axit amin, mà bao quát các CDR, như được định nghĩa bởi tài liệu: mỗi tài liệu tham khảo trong số các tài liệu tham khảo được trích dẫn trên đây được nêu ra dưới đây trong Bảng 2 ở dạng so sánh. Các CDR được liệt kê trong Bảng 1 (được đưa ra ở Hình 12A-12F) được định nghĩa theo Lefranc 2003.

Bảng 2: Các định nghĩa về CDR

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR-1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR-2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR-3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR-1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR-2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR-3	89-97	91-96	89-96

¹ Phương pháp đánh số gốc tuân theo danh pháp của Kabat et al., trên đây

² Phương pháp đánh số gốc tuân theo danh pháp của Chothia et al., trên đây

³ Phương pháp đánh số gốc tuân theo danh pháp của MacCallum et al., trên

đây

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ “CDR-L1”, “CDR-L2”, và “CDR-L3” lần lượt được dùng để chỉ CDR thứ nhất, thứ hai, và thứ ba trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ. Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ “CDR-H1”, “CDR-H2”, và “CDR-H3” lần lượt được dùng để chỉ CDR thứ nhất, thứ hai, và thứ ba trong vùng biến đổi của chuỗi nặng. Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật

ngữ “CDR-1”, “CDR-2”, và “CDR-3” lần lượt được dùng để chỉ CDR thứ nhất, thứ hai và thứ ba của vùng biến đổi của một trong hai chuỗi.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “khung” khi được sử dụng liên quan đến vùng biến đổi của kháng thể được dự định là có ý chỉ tất cả các gốc axit amin nằm ngoài các vùng CDR trong phạm vi vùng biến đổi của kháng thể. Khung vùng biến đổi thường là trình tự axit amin không liên tục có chiều dài từ khoảng 100 đến 120 axit amin nhưng được dự định để chỉ chỉ các axit amin nằm ngoài các CDR mà thôi. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “vùng khung” được dự định là có ý chỉ mỗi miền của khung mà được phân cách bởi các CDR.

Kháng thể “được phân lập” là kháng thể mà đã được nhận diện và được tách và/hoặc được thu hồi từ hợp phần của môi trường tự nhiên của nó. Các hợp phần gây bản của môi trường tự nhiên của nó là các chất liệu mà thường cản trở cách sử dụng để chẩn đoán hoặc trị liệu của kháng thể, và có thể bao gồm các enzym, hormon, và chất tan có protein hoặc chất tan không có protein khác. Trong một số trường hợp, kháng thể này được tinh chế (1) đến mức lớn hơn 90%, lớn hơn 95%, hoặc lớn hơn 98%, theo trọng lượng của kháng thể như được xác định bằng phương pháp Lowry, ví dụ, nhiều hơn 99% theo trọng lượng, (2) đến một mức độ đủ để thu được ít nhất 15 gốc của trình tự axit amin đầu tận cùng N hoặc trình tự axit amin bên trong bằng việc sử dụng máy giải trình tự kiểu cóc quay, hoặc (3) đến tính thuần nhất bằng quá trình điện di trên gel natri dodecyl sulfat-polyacrylamit (SDS-PAGE) trong điều kiện khử hoặc điều kiện không khử bằng cách sử dụng phẩm xanh lam Coomassie hoặc thuốc nhuộm bạc. Kháng thể được phân lập bao gồm kháng thể in situ trong các tế bào tái tổ hợp vì ít nhất một hợp phần của môi trường tự nhiên của kháng thể sẽ không có mặt. Trong một số trường hợp, kháng thể được phân lập sẽ được điều chế bằng ít nhất một bước tinh chế.

Các thuật ngữ “polypeptit,” “peptit,” và “protein”, được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này, được dùng để chỉ dạng polyme của các axit amin có chiều dài bất kỳ, dạng này có thể bao gồm các axit amin được ghi mã về phương diện gen và không được ghi mã về phương diện gen, các axit amin được tạo dẫn xuất hoặc được cải biến về phương diện hóa học hoặc về phương diện hóa sinh học, và các polypeptit có các khung chính peptit được cải biến. Thuật ngữ này bao gồm các protein dung hợp, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các protein dung hợp có trình tự axit amin khác nguồn gốc, các dạng dung hợp với các trình tự dẫn đầu khác nguồn gốc và tương đồng, có hoặc

không có gốc metionin đầu tận cùng N; các protein được gắn thẻ về phương diện miễn dịch học; và các chất tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ “sự điều trị”, “quá trình điều trị”, “điều trị” và các thuật ngữ tương tự, được dùng để chỉ việc thu được tác dụng được lý và/hoặc tác dụng sinh lý học mong muốn. Tác dụng này có thể là phòng bệnh về phương diện phòng ngừa một phần hoặc hoàn toàn bệnh hoặc triệu chứng của nó và/hoặc có thể là trị liệu về phương diện chữa lành một phần hoặc hoàn toàn đối với bệnh và/hoặc tác dụng có hại có thể quy được cho bệnh này. “Sự điều trị”, như được sử dụng trong bản mô tả này, bao hàm sự điều trị bất kỳ đối với bệnh ở động vật có vú, cụ thể là ở người, và bao gồm: (a) phòng ngừa bệnh khỏi xảy ra ở đối tượng mà có thể có xu hướng bị bệnh nhưng vẫn chưa được chẩn đoán là có bệnh này; (b) ức chế bệnh, tức là, kìm hãm sự phát triển của nó; và (c) giảm nhẹ bệnh, tức là, gây ra sự thoái triển của bệnh.

Các thuật ngữ “cá thể”, “đối tượng”, “vật chủ,” và “bệnh nhân,” được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này, được dùng để chỉ động vật có vú, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chuột (chuột cống, chuột nhắt), động vật linh trưởng không phải người, người, chó, mèo, động vật có móng guốc (ví dụ, ngựa, bò, cừu, lợn, dê), v.v. Cũng được bao quát bởi các thuật ngữ này là động vật bất kỳ mà có hệ thống bổ thể, như động vật có vú, cá, và một số động vật không xương sống. Như vậy, các thuật ngữ này bao gồm động vật có vú, cá, và động vật không xương sống, động vật đồng hành, động vật trong ngành nông nghiệp, động vật cung cấp sức lao động, động vật trong vườn thú, và động vật trong phòng thí nghiệm chứa hệ thống bổ thể.

“Lượng hữu hiệu về mặt trị liệu” hoặc “lượng hiệu nghiệm” được dùng để chỉ lượng của kháng thể kháng bổ thể Bb mà, khi cho động vật có vú hoặc đối tượng khác dùng để điều trị bệnh, là đủ để tác dụng đến phương pháp điều trị như vậy đối với bệnh. “Lượng hữu hiệu về mặt trị liệu” sẽ thay đổi tùy thuộc vào kháng thể kháng bổ thể Bb, bệnh và mức độ trầm trọng của nó và độ tuổi, trọng lượng, v.v., của đối tượng cần được điều trị.

“Mẫu sinh học” bao quát một loạt loại mẫu thu được từ cá thể và có thể được sử dụng trong thử nghiệm chẩn đoán hoặc thử nghiệm theo dõi. Định nghĩa này bao quát máu và các mẫu chất lỏng khác có nguồn gốc sinh học, các mẫu mô rắn như mẫu sinh thiết hoặc các môi trường nuôi cấy mô hoặc các tế bào được tạo ra từ đó và thế hệ con của chúng. Định nghĩa này còn bao gồm các mẫu mà đã được thao tác theo cách bất kỳ

sau khi kiểm được chúng, như bằng việc xử lý bằng các chất phản ứng, quá trình hòa tan, hoặc quá trình làm giàu để có được các hợp phần nhất định, như các polynucleotit. Thuật ngữ “mẫu sinh học” bao quát mẫu lâm sàng, và còn bao gồm các tế bào trong môi trường nuôi cấy, dịch nổi ở trên của tế bào, các sản phẩm phân giải tế bào, huyết thanh, huyết tương, chất dịch sinh học, và các mẫu mô. Thuật ngữ “mẫu sinh học” bao gồm nước tiểu, nước bọt, dịch não-tủy, chất dịch kẽ, chất dịch mắt, hoạt dịch, các phần máu như huyết tương và huyết thanh, và các chất tương tự. Thuật ngữ “mẫu sinh học” còn bao gồm các mẫu mô rắn, mẫu nuôi cấy mô, và mẫu tế bào.

Trước khi sáng chế này được mô tả thêm, cần phải hiểu rằng sáng chế này không bị giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả, như vậy, tất nhiên, có thể thay đổi. Cũng cần phải hiểu rằng hệ thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này là vì mục đích mô tả các phương án cụ thể mà thôi, và không được dự định là làm giới hạn, vì phạm vi của sáng chế này sẽ bị giới hạn chỉ bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Trường hợp một khoảng gồm các trị số được đề xuất, thì cần phải hiểu rằng mỗi trị số xen giữa, đến một phần mười của đơn vị của giới hạn dưới trừ khi ngữ cảnh quyết định khác một cách rõ ràng, giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng đó và khoảng bất kỳ khác được nêu ra hoặc trị số xen giữa trong khoảng được nêu đó, được bao quát trong phạm vi sáng chế. Giới hạn trên và giới hạn dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể được lấy một cách độc lập vào các khoảng nhỏ hơn, và cũng được bao quát trong phạm vi sáng chế, tùy thuộc vào giới hạn bị loại trừ một cách cụ thể bất kỳ trong khoảng được nêu ra này. Trường hợp khoảng được nêu ra bao gồm một hoặc cả hai giới hạn trong số các giới hạn này, các khoảng loại trừ một trong hai giới hạn hoặc cả hai giới hạn trong số các giới hạn được lấy vào đó cũng được lấy vào trong sáng chế.

Trừ khi được định nghĩa khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này có cùng một ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế này thuộc về. Mặc dù các phương pháp và các chất liệu bất kỳ tương tự hoặc tương đương với những loại được mô tả trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng trong việc thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế này, nhưng bây giờ mô tả các phương pháp và các chất liệu được ưu tiên. Tất cả các công bố được đề cập trong bản mô tả này là được đưa vào đây bằng cách viện dẫn để bộc lộ và mô tả các phương pháp và/hoặc các chất liệu mà các công bố được trích dẫn trong mối liên hệ với chúng.

Phải lưu ý rằng như được sử dụng trong bản mô tả này và ở các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng số ít “một” bao gồm các dạng đề cập số nhiều trừ khi ngữ cảnh quyết định khác một cách rõ ràng. Vì vậy, ví dụ, sự đề cập đến “kháng thể kháng Bb” bao gồm nhiều kháng thể như vậy và sự đề cập đến “chế phẩm” bao gồm sự đề cập đến một hoặc nhiều chế phẩm và các đương lượng của chúng đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này, v.v.. Cần phải lưu ý thêm rằng các điểm yêu cầu bảo hộ có thể được phác thảo để loại trừ phần tử tùy ý bất kỳ. Như vậy, lối trình bày này được dự định làm cơ sở tiền đề cho việc sử dụng hệ thuật ngữ có tính loại trừ như “riêng chỉ”, “chỉ” và các thuật ngữ tương tự liên quan đến việc liệt kê các phần tử của điểm yêu cầu bảo hộ, hoặc việc sử dụng giới hạn “âm tính”.

Được nhìn nhận rằng các đặc tính nhất định của sáng chế, các đặc tính này, vì sự rõ ràng, được mô tả trong ngữ cảnh về các phương án tách biệt, cũng có thể được bố trí trong dạng kết hợp trong một phương án đơn lẻ. Ngược lại, các đặc tính khác nhau của sáng chế, các đặc tính này, vì sự ngắn gọn, được mô tả trong ngữ cảnh về một phương án đơn lẻ, cũng có thể được bố trí một cách tách biệt hoặc ở dạng kết hợp phụ thích hợp bất kỳ. Tất cả các dạng kết hợp của các phương án thuộc về sáng chế này thì được bao quát một cách cụ thể bởi sáng chế này và được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ như thể mỗi và mọi dạng kết hợp được bộc lộ một cách tường minh và riêng biệt. Ngoài ra, tất cả các dạng kết hợp phụ của các phương án khác nhau và các phần tử của chúng cũng được bao quát một cách cụ thể bởi sáng chế này và được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ như thể mỗi và mọi dạng kết hợp phụ như vậy được bộc lộ một cách tường minh và riêng biệt trong bản mô tả này.

Các công bố được bàn luận trong bản mô tả này được đưa ra riêng chỉ vì phần bộc lộ của chúng trước ngày nộp đơn của đơn này. Không có gì trong bản mô tả này để hiểu là một sự thừa nhận rằng sáng chế này không được quyền lấy ngày trước công bố như vậy vì sáng chế trước. Hơn nữa, các ngày công bố được đưa ra có thể khác với các ngày công bố thực tế mà có thể cần được xác nhận một cách độc lập.

Sáng chế này đề xuất các kháng thể kháng yếu tố bổ thể Bb, và các chế phẩm chứa các kháng thể này. Các kháng thể kháng Bb là hữu ích cho việc điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian. Sáng chế này đề xuất các phương pháp điều trị các rối loạn do bổ thể làm trung gian.

Các kháng thể kháng bổ thể BB

Sáng chế này đề xuất các kháng thể kháng bỏ thể Bb và các dược phẩm chứa các kháng thể như vậy. Kháng thể kháng bỏ thể Bb theo sáng chế này còn được gọi trong bản mô tả này là kháng thể “kháng Bb” hoặc kháng thể “kháng yếu tố Bb”. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng bỏ thể Bb theo sáng chế này được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng bỏ thể Bb theo sáng chế này bao gồm ít nhất một vùng khung vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (VL) được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng bỏ thể Bb theo sáng chế này bao gồm ít nhất một vùng khung vùng biến đổi được nhân tính hóa của chuỗi nặng (VH). Trong một số trường hợp, kháng thể kháng bỏ thể Bb theo sáng chế này bao gồm ít nhất một vùng khung VL được nhân tính hóa, và ít nhất một vùng khung VH được nhân tính hóa.

Quá trình nhân tính hóa (các) vùng khung làm giảm nguy cơ kháng thể gây ra đáp ứng kháng thể của người kháng của chuột (human-anti-mouse-antibody-HAMA) ở người. Các phương pháp được công nhận trong lĩnh vực kỹ thuật này về việc xác định đáp ứng miễn dịch có thể được thực hiện để theo dõi đáp ứng HAMA ở một bệnh nhân cụ thể hoặc trong suốt các thử nghiệm lâm sàng. Có thể thực hiện việc đánh giá tính sinh miễn dịch các bệnh nhân đã được cho dùng kháng thể được nhân tính hóa vào lúc bắt đầu và xuyên suốt quá trình cho dùng liệu pháp. Đáp ứng HAMA được đo, ví dụ, bằng cách phát hiện kháng thể kháng lại chất phản ứng trị liệu được nhân tính hóa, trong các mẫu huyết thanh từ bệnh nhân bằng cách sử dụng phương pháp đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm cả công nghệ cộng hưởng plasmon bề mặt (BIACORE) và/hoặc phép phân tích thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA) pha rắn. Trong nhiều trường hợp, kháng thể kháng Bb được nhân tính hóa theo sáng chế này về cơ bản không gây ra đáp ứng HAMA ở đối tượng là người.

Các axit amin nhất định từ gốc khung vùng biến đổi của người được chọn lựa cho quá trình thay thế dựa trên ảnh hưởng có thể có của chúng đối với hình thể CDR và/hoặc kháng nguyên liên kết. Vị trí cạnh nhau phi tự nhiên của các vùng CDR của chuột với vùng khung biến đổi của người có thể đem lại những sự kiểm chế hình thể phi tự nhiên, trừ khi được chỉnh sửa bằng quá trình thay thế các gốc axit amin nhất định, điều này dẫn đến hiện tượng mất ái lực liên kết.

Quá trình chọn lựa các gốc axit amin cho việc thay thế có thể được xác định, một phần, bằng phương pháp lập mô hình bằng máy vi tính. Phần cứng và phần mềm máy vi tính dùng để tạo ra các hình ảnh không gian ba chiều của các phân tử globulin miễn dịch

là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Nhìn chung, các mô hình phân tử được tạo ra bắt đầu từ các cấu trúc đã được giải quyết của các chuỗi globulin miễn dịch hoặc các miền của chúng. Các chuỗi cần được lập mô hình được so sánh về độ tương đồng trình tự axit amin với các chuỗi hoặc các miền của các cấu trúc không gian ba chiều đã được giải quyết, và các chuỗi hoặc các miền thể hiện độ tương đồng trình tự lớn nhất được chọn lựa làm điểm bắt đầu cho quá trình kiến tạo mô hình phân tử. Các chuỗi hoặc các miền có chung độ đồng nhất trình tự ít nhất 50% được chọn lựa cho việc lập mô hình, ví dụ, những loại có chung độ đồng nhất trình tự ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90% hoặc lớn hơn nữa được chọn lựa cho việc lập mô hình. Các cấu trúc bắt đầu đã được giải quyết được cải biến để cho phép có những khác biệt giữa các axit amin thực tế trong chuỗi globulin miễn dịch hoặc các miền đang được lập mô hình, và những loại trong cấu trúc bắt đầu. Sau đó, các cấu trúc đã được cải biến được lắp ráp vào globulin miễn dịch đa hợp. Cuối cùng, mô hình được tinh lọc bằng phương pháp giảm thiểu năng lượng và bằng cách xác minh rằng tất cả các nguyên tử là trong phạm vi các khoảng cách cách nhau thích hợp và rằng góc và chiều dài liên kết là trong phạm vi giới hạn có thể chấp nhận được về phương diện hóa học.

CDR và các vùng khung là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc et al. (2003) *Developmental and Comparative Immunology* 27:55 (còn được gọi trong bản mô tả này là “Lefranc 2003”); Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 và 1991). Một định nghĩa về cấu trúc thay thế khác đã được đề xuất bởi Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987); *Nature* 342:878 (1989); và *J. Mol. Biol.* 186:651 (1989) (được gọi chung là “Chothia”). Khi gốc khung, như được định nghĩa bởi Kabat, trên đây, cấu thành gốc vòng cấu trúc như được định nghĩa bởi Chothia, trên đây, các axit amin có mặt ở kháng thể của chuột có thể được chọn lựa cho quá trình thay thế vào kháng thể được nhân tính hóa. Gốc mà “liền kề với vùng CDR” bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí liền kề sát ngay với một hoặc nhiều CDR trong số các CDR trong trình tự bậc nhất của chuỗi globulin miễn dịch được nhân tính hóa, ví dụ, ở các vị trí liền kề sát ngay với CDR như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat, hoặc CDR như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia (ví dụ, xem tài liệu: Chothia and Lesk *JMB* 196:901 (1987)). Cụ thể là, các axit amin này chắc chắn tương tác với các axit amin trong các CDR và, nếu được chọn từ đối tượng nhận, thì làm biến dạng các CDR của đối tượng cho và làm giảm ái lực. Hơn nữa, các axit amin liền kề có thể tương tác

một cách trực tiếp với kháng nguyên (Amit et al., Science, 233:747 (1986)) và việc chọn lựa các axit amin này từ đối tượng cho có thể là thích hợp để giữ tất cả các tiếp xúc kháng nguyên mà đem lại ái lực ở kháng thể ban đầu.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M10; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung (FR) V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M10; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL

của kháng thể M10; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M10, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng

chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định

nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M4; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M4, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm

một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M20; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M20, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Lefranc 2003. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Kabat 1991. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung VL và/hoặc VH được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp,

kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VL của kháng thể M17; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR của VH của kháng thể M17, trong đó các CDR là như được định nghĩa bởi tài liệu: Chothia 1987. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO: 6. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm: a) vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3; và b) vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO: 6. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO: 14. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm: a) vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11; và b) vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO: 14. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID

NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm: a) vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19; và b) vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:26. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm: a) vùng chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:26; và b) vùng chuỗi nặng bao gồm một, hai, hoặc ba CDR được chọn lựa từ SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29. Theo một số phương án trong số các phương án này, kháng thể kháng Bb bao gồm vùng khung V_L và/hoặc V_H được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, khung V_H hoặc khung V_L được nhân tính hóa là khung liên ứng của người. Khung liên ứng được nhân tính hóa có thể thể hiện gốc axit amin thường có nhất trong quá trình chọn lựa các trình tự khung V_H hoặc V_L của globulin miễn dịch của người.

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_H liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_H như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm III):

- a) V_H FR1: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:50);
- b) V_H FR2: WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:51);
- c) V_H FR3: RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52); và
- d) V_H FR4: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:54).

Trong một số trường hợp, V_H FR3 bao gồm dạng thay thế axit amin ở vị trí 71, 73, và/hoặc 78; ví dụ, trong đó R được bôi đậm và được gạch dưới trong RFTIS**R**DN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) là axit amin 71 (cách đánh số Kabat); N được bôi đậm và được gạch dưới trong RFTISRDN**N**SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) là axit amin 73 (cách

đánh số Kabat); và L được bôi đậm và được gạch dưới trong RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:52) là axit amin 78 (cách đánh số Kabat). Ví dụ, trong một số trường hợp, axit amin 71 là A; và/hoặc axit amin 73 là T; và/hoặc axit amin 78 là A. Lấy ví dụ, trong một số trường hợp, V_H FR3 liên ứng được nhân tính hóa thích hợp bao gồm trình tự axit amin: RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:54).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_H liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_H như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm I):

- a) V_H FR1: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKAS (SEQ ID NO:55);
- b) V_H FR2: WVRQAPGQGLEWM (SEQ ID NO:56);
- c) V_H FR3: RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC (SEQ ID NO:57); và
- d) V_H FR4: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:58).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_H liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_H như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm II):

- a) V_H FR1: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (SEQ ID NO:59);
- b) V_H FR2: WIRQPPGKGLEWI (SEQ ID NO:60);
- c) V_H FR3: RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYC (SEQ ID NO:61); và
- d) V_H FR4: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:62).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_L liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_L như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm I):

- a) V_L FR1: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:63);
- b) V_L FR2: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:64);
- c) V_L FR3: GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:65); và
- d) V_L FR4: FGQG TKVEIK (SEQ ID NO:66).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_L liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_L như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm II):

- a) V_L FR1: DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC (SEQ ID NO:67);
- b) V_L FR2: WYLQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:68);

c) V_L FR3: GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:69);

và

d) V_L FR4: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:70).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_L liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_L như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm III):

a) V_L FR1: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:71);

b) V_L FR2: WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO:72);

c) V_L FR3: GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:73);

và

d) V_L FR4: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:74).

Các ví dụ không giới hạn về vùng khung V_L liên ứng của người thích hợp cho việc sử dụng với các CDR của V_L như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm (vùng liên ứng phân nhóm IV):

a) V_L FR1: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO:71);

b) V_L FR2: WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO:72);

c) V_L FR3: GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO:73);

và

d) V_L FR4: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:74).

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng

biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:26.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:1, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:2, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:3, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:4, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:5, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:6.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:9, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:10, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:11, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:12, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:13, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:14.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:17, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:18, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:19, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:20, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:21, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:22.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm CDR-L1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:25, CDR-L2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:2, CDR-L3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:26, CDR-H1 có trình tự axit amin SEQ ID NO:27, CDR-H2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:28, và CDR-H3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:29.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng

biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:23, và SEQ ID NO:30.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:7.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:15.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:23.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:30.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:24, và SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin

được nêu ra trong SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:7.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:15.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:23.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:30.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit

amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:7.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:15.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:23.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:30.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng

biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:30 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 90% với trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà

đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:30 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất 95% với trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30 và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết một cách đặc hiệu epitop trong protein Bb bổ thể, trong đó kháng thể này cạnh tranh để liên kết epitop này với một kháng thể mà bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết một cách đặc hiệu epitop trong protein Bb bổ thể, trong đó kháng thể này cạnh tranh để liên kết epitop này với một kháng thể mà bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin

SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết một cách đặc hiệu epitop trong protein Bb bỏ thể, trong đó kháng thể này cạnh tranh để liên kết epitop này với một kháng thể mà bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết một cách đặc hiệu epitop trong protein Bb bỏ thể, trong đó kháng thể này cạnh tranh để liên kết epitop này với một kháng thể mà bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các CDR của chuỗi nhẹ của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30 và các CDR của chuỗi nặng của vùng biến đổi của kháng thể của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bỏ thể từ cá thể mà có hệ thống bỏ thể. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bỏ thể từ động vật có vú, cá, hoặc động vật không

xương sống mà có hệ thống bổ thể. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bổ thể của động vật có vú. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bổ thể của người. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bổ thể có các axit amin 26-259 của trình tự axit amin được trình bày ở Hình 13. Hình 13 đưa ra một trình tự axit amin của protein Bb bổ thể của *Người khôn ngoan*; các axit amin 26-259 là protein trưởng thành.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết protein Bb bổ thể với ái lực là từ 10^{-8} M đến 10^{-9} M, từ 10^{-9} M đến 10^{-10} M, hoặc từ 10^{-10} M đến 10^{-11} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này biểu hiện khả năng liên kết ưu tiên đối với yếu tố Bb, so với khả năng liên kết của kháng thể kháng Bb đối với yếu tố B. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết vào yếu tố Bb, nhưng về cơ bản không liên kết vào yếu tố B tan được. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết vào yếu tố Bb với ái lực mà cao hơn ái lực của kháng thể này đối với yếu tố B ít nhất 2 lần, ít nhất 2,5 lần, ít nhất 3 lần, ít nhất 4 lần, ít nhất 5 lần, ít nhất 7,5 lần, ít nhất 10 lần, ít nhất 15 lần, ít nhất 20 lần, ít nhất 25 lần, ít nhất 50 lần, ít nhất 75 lần, hoặc ít nhất 100 lần. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết vào yếu tố Bb với ái lực mà cao hơn ái lực của kháng thể này đối với yếu tố B từ 2 lần đến 2,5 lần, từ 2,5 lần đến 5 lần, từ 5 lần đến 10 lần, từ 10 lần đến 15 lần, từ 15 lần đến 20 lần, từ 20 lần đến 25 lần, từ 25 lần đến 50 lần, từ 50 lần đến 75 lần, hoặc từ 75 lần đến 100 lần. Trong một số trường hợp, tỷ lệ giữa i) khả năng liên kết của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này vào yếu tố Bb và ii) khả năng liên kết của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này vào yếu tố B là ít nhất 2:1, ít nhất 5:1, ít nhất 10:1, ít nhất 25:1, ít nhất 50:1, ít nhất 75:1, hoặc ít nhất 100:1. Trong một số trường hợp, tỷ lệ giữa i) khả năng liên kết của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này vào yếu tố Bb và ii) khả năng liên kết của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này vào yếu tố B là từ 2:1 đến 5:1, từ 5:1 đến 10:1, từ 10:1 đến 25:1, từ 25:1 đến 50:1, từ 50:1 đến 75:1, hoặc từ 75:1 đến 100:1.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết cả yếu tố B và yếu tố Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế hoạt tính

con đường thay thế khác (AP) là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức hoạt tính AP khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế hoạt tính AP với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình tạo thành phức hợp tấn công màng (MAC) là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của MAC được tạo thành khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian. C3b/Bb còn được gọi là “C3 convertaza”. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với quá trình phân cắt C3 khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian, nhờ đó làm giảm mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian, nhờ đó làm giảm mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3 (ví dụ, C3a và/hoặc C3b) là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3 khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian bao gồm các CDR của VL và VH có mặt lần lượt ở VL và VH của M17. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm

trung gian bao gồm các CDR của VL và VH có mặt lần lượt ở VL và VH của M10.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này liên kết yếu tố B và ức chế quá trình phân cắt yếu tố B. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt yếu tố B là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc nhiều hơn 95%, so với quá trình phân cắt yếu tố B khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế hiện tượng tạo thành C3b/Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế hiện tượng phân giải tế bào do AP bổ thể làm trung gian là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức độ phân giải tế bào khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Thử nghiệm về hiện tượng phân giải tế bào có thể được sử dụng để xác định mức độ ức chế hiện tượng phân giải tế bào do AP làm trung gian. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế hiện tượng phân giải tế bào do AP làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế chứng tán huyết do AP bổ thể làm trung gian là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức độ của chứng tán huyết khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Thử nghiệm về chứng tán huyết hồng cầu (RBC) thử có thể được sử dụng để xác định mức độ ức chế chứng tán huyết do AP làm trung gian. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế chứng tán huyết do AP làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít

ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng của C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác trên tế bào hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng C3b trên tế bào hoặc mô khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các hồng cầu (RBC) là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng C3b trên các RBC khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các RBC với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng

của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế sự tương tác yếu tố H (fH) với C3bBb (C3 convertaza con đường thay thế khác của bổ thể). Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế sự tương tác fH với C3bBb là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với sự tương tác của fH đối với C3bBb khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế sự tương tác fH với C3bBb bao gồm các CDR của VL và VH có mặt lần lượt ở VL và VH của M4.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế khả năng yếu tố H (fH) liên kết vào C3bBb (C3 convertaza con đường thay thế khác của bổ thể). Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế khả năng fH liên kết vào C3bBb là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với khả năng liên kết của fH vào C3bBb khi thiếu vắng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế khả năng fH liên kết vào C3bBb bao gồm các CDR của VL và VH có mặt lần lượt ở VL và VH của M4.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế sự tương tác fH với C3bBb kích thích sự suy thoái của C3. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế sự tương tác fH với C3bBb, khi cho cá thể cần đến dùng kháng thể này theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Các dịch thể bao gồm, ví dụ, huyết thanh, huyết tương, bạch huyết, chất dịch ngoại bào, máu, và các chất tương tự.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế khả năng fH liên kết vào C3bBb kích thích sự suy thoái của C3. Trong một số trường hợp,

kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế khả năng fH liên kết vào C3bBb, khi cho cá thể cần đến dùng kháng thể này theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Các dịch thể bao gồm, ví dụ, huyết thanh, huyết tương, bạch huyết, chất dịch ngoại bào, máu, và các chất tương tự.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế sự tương tác fH với C3bBb, khi cho cá thể mà có hội chứng kháng thể kháng phospholipit thăm khốc dùng kháng thể này theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà ức chế khả năng fH liên kết vào C3bBb, khi cho cá thể mà có hội chứng kháng thể kháng phospholipit thăm khốc dùng kháng thể này theo một hoặc nhiều liều lượng, thì làm giảm lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của C3 trong dịch thể hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Sáng chế này đề xuất đối với kháng thể kháng Bb bất kỳ theo các phương án cần được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng khung được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa và vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm một hoặc nhiều vùng khung (các FR) được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm một, hai, ba, hoặc bốn FR chuỗi nhẹ mà đã được được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: FR1 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L1 như được nêu ra trong bản mô tả này; FR2 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L2 như được nêu ra trong bản mô tả này; FR3 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L3 như được nêu ra trong bản mô tả này; và FR4 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, các trình tự axit amin tương ứng của CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3 là một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11; SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19; và SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:26.

Ví dụ, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này có thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ mà bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: FR1 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1; FR2 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:2; FR3 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa; CDR-L3 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; và FR4 chuỗi nhẹ được nhân tính hóa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm một, hai, ba, hoặc bốn FR chuỗi nặng mà đã được được nhân tính hóa. Trong một số trường hợp, kháng thể đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: FR1 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H1 như được nêu ra trong bản mô tả này; FR2 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H2 như được nêu ra trong bản mô tả này; FR3 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H3 như được nêu ra trong bản mô tả này; và FR4 chuỗi nặng được nhân tính hóa. Ví dụ, kháng thể đối tượng có thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng mà bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: FR1 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4; FR2 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5; FR3 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-H3 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; và FR4 chuỗi nặng được nhân tính hóa. Theo một số phương án, các trình tự axit amin tương ứng của

CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3 là một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; và SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29.

Ví dụ, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này có thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng mà bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: FR1 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-L1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4; FR2 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-L2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5; FR3 chuỗi nặng được nhân tính hóa; CDR-L3 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; và FR4 chuỗi nặng được nhân tính hóa.

Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà liên kết protein Bb bổ thể của người cũng liên kết protein Bb bổ thể của một loài khác. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà liên kết protein Bb bổ thể của người cũng liên kết protein Bb bổ thể của động vật linh trưởng không phải người. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này mà liên kết protein Bb bổ thể của người cũng liên kết protein Bb bổ thể của động vật gặm nhấm. Các ví dụ về protein Bb bổ thể của động vật gặm nhấm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các protein Bb của chuột lang nhà, các protein Bb của chuột túi má, các protein Bb của chuột nhắt, và các protein Bb của chuột cống. Theo một số phương án, kháng thể có tính phản ứng chéo như vậy liên kết protein Bb bổ thể của một loài khác với K_D có một bậc độ lớn tương tự với kháng thể này liên kết protein Bb bổ thể của người.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là monome Ig hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó mà liên kết protein Bb bổ thể. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là monome Ig. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là đoạn liên kết kháng nguyên của monome Ig mà liên kết protein Bb bổ thể.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được chọn lựa từ nhóm gồm monome Ig, đoạn Fab, đoạn $F(ab')_2$, đoạn Fd, scFv, scAb, dAb, Fv, kháng thể chỉ có chuỗi nặng miền đơn lẻ, và kháng thể chỉ có chuỗi nhẹ miền đơn lẻ. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là kháng thể Fv chuỗi đơn lẻ (scFv).

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở các polypeptit tách biệt.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở một polypeptit đơn lẻ.

Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các CDR của chuỗi nặng kháng Bb và các CDR của chuỗi nhẹ kháng Bb trong một chuỗi polypeptit đơn lẻ, ví dụ, theo một số phương án, kháng thể đối tượng là scFv. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: trình tự axit amin thứ nhất có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L1; trình tự axit amin thứ hai có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L2; trình tự axit amin thứ ba có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L3; trình tự axit amin thứ tư có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-H1; trình tự axit amin thứ năm có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-H2; trình tự axit amin thứ sáu có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-H3; và trình tự axit amin thứ bảy có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin. Trong một số trường hợp, các trình tự axit amin tương ứng của CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3 là một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; và SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: trình tự axit amin thứ nhất có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L1 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:1; trình tự axit amin thứ hai có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L2 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:2; trình tự axit amin thứ ba có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-L3 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:3; trình tự axit amin thứ tư có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-H1 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:4; trình tự axit amin thứ năm có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin; CDR-H2 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:5; trình tự axit amin thứ sáu có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến

khoảng 25 axit amin; CDR-H3 bao gồm trình tự axit amin được nêu ra trong SEQ ID NO:6; và trình tự axit amin thứ bảy có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 25 axit amin.

Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: vùng FR1 chuỗi nhẹ; CDR-L1; vùng FR2 chuỗi nhẹ; CDR-L2; vùng FR3 chuỗi nhẹ; CDR-L3; tùy ý là vùng FR4 chuỗi nhẹ; vùng gốc liên kết; tùy ý là vùng FR1 chuỗi nặng; CDR-H1; vùng FR2 chuỗi nặng; CDR-H2; vùng FR3 chuỗi nặng; CDR-H3; và vùng FR4 chuỗi nặng. Theo một số phương án, các trình tự axit amin tương ứng của CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3 là một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; và SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29. Theo một số phương án trong số các phương án này, một hoặc nhiều vùng trong số các vùng FR này là vùng FR được nhân tính hóa. Theo một số phương án trong số các phương án này, mỗi vùng trong số các vùng FR này là vùng FR được nhân tính hóa. Vùng gốc liên kết có thể có chiều dài từ khoảng 5 axit amin (aa) đến khoảng 50 axit amin, ví dụ, chiều dài từ khoảng 5 aa đến khoảng 10 aa, từ khoảng 10 aa đến khoảng 15 aa, từ khoảng 15 aa đến khoảng 20 aa, từ khoảng 20 aa đến khoảng 25 aa, từ khoảng 25 aa đến khoảng 30 aa, từ khoảng 30 aa đến khoảng 35 aa, từ khoảng 35 aa đến khoảng 40 aa, từ khoảng 40 aa đến khoảng 45 aa, hoặc từ khoảng 45 aa đến khoảng 50 aa.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: vùng FR1 chuỗi nặng; CDR-H1; vùng FR2 chuỗi nặng; CDR-H2; vùng FR3 chuỗi nặng; CDR-H3; tùy ý là vùng FR4 chuỗi nặng; gốc liên kết; tùy ý là vùng FR1 chuỗi nhẹ; CDR-L1; vùng FR2 chuỗi nhẹ; CDR-L2; vùng FR3 chuỗi nhẹ; CDR-L3; và vùng FR4 chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, các trình tự axit amin tương ứng của CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3 là một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; SEQ ID

NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; và SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29. Theo một số phương án trong số các phương án này, một hoặc nhiều vùng trong số các vùng FR này là vùng FR được nhân tính hóa. Theo một số phương án trong số các phương án này, mỗi vùng trong số các vùng FR này là vùng FR được nhân tính hóa. Vùng gốc liên kết có thể có chiều dài từ khoảng 5 axit amin đến khoảng 50 axit amin, ví dụ, chiều dài từ khoảng 5 aa đến khoảng 10 aa, từ khoảng 10 aa đến khoảng 15 aa, từ khoảng 15 aa đến khoảng 20 aa, từ khoảng 20 aa đến khoảng 25 aa, từ khoảng 25 aa đến khoảng 30 aa, từ khoảng 30 aa đến khoảng 35 aa, từ khoảng 35 aa đến khoảng 40 aa, từ khoảng 40 aa đến khoảng 45 aa, hoặc từ khoảng 45 aa đến khoảng 50 aa.

Các gốc liên kết thích hợp cho việc sử dụng kháng thể đối tượng bao gồm “các gốc liên kết linh động”. Nếu có mặt, các phân tử gốc liên kết thường có chiều dài đủ để cho phép một số chuyển động linh động giữa các vùng được liên kết. Theo một số phương án, các phân tử gốc liên kết thường dài khoảng 6-50 nguyên tử. Các phân tử gốc liên kết cũng có thể là, ví dụ, aryl axetylen, các oligome etylen glycol chứa 2-10 đơn vị monome, diamine, diaxit, axit amin, hoặc các dạng kết hợp của chúng. Các phân tử gốc liên kết khác mà có thể liên kết các polypeptit có thể được sử dụng vì xem xét đến sáng chế này.

Các gốc liên kết thích hợp có thể được chọn lựa một cách dễ dàng và có thể có chiều dài bất kỳ trong số một số chiều dài thích hợp, như từ 1 axit amin (ví dụ, Gly) đến 20 axit amin, từ 2 axit amin đến 15 axit amin, từ 3 axit amin đến 12 axit amin, bao gồm cả 4 axit amin đến 10 axit amin, 5 axit amin đến 9 axit amin, 6 axit amin đến 8 axit amin, hoặc 7 axit amin đến 8 axit amin, và có thể là 1, 2, 3, 4, 5, 6, hoặc 7 axit amin.

Các gốc liên kết linh động làm ví dụ bao gồm các polyme glyxin (G)_n, các polyme glyxin-serin (bao gồm cả, ví dụ, (GS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO:75) và (GGGS)_n (SEQ ID NO:76), trong đó n là số nguyên ít nhất bằng một), các polyme glyxin-alanin, các polyme alanin-serin, và các gốc liên kết linh động khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Polyme glyxin và polyme glyxin-serin là đang được quan tâm vì cả hai axit amin trong số các axit amin này là tương đối thiếu cấu trúc, và do đó có thể đóng vai trò là dây kết nối trung tính giữa các hợp phần. Các polyme glyxin là đang được quan tâm đặc biệt vì glyxin tiếp cận một cách đáng kể hơn vào không gian phi-psi so với thậm chí là alanin,

và ít bị giới hạn hơn nhiều so với gốc có chuỗi bên dài hơn (xem tài liệu: Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)). Các gốc liên kết linh động làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở GGSG (SEQ ID NO:77), GGSGG (SEQ ID NO:78), GSGSG (SEQ ID NO:79), GSGGG (SEQ ID NO:80), GGGSG (SEQ ID NO:81), GSSSG (SEQ ID NO:82), và các gốc liên kết tương tự. Chuyên gia có trình độ trung bình sẽ công nhận rằng kiểu thiết kế của peptit được tiếp hợp vào các phần tử bất kỳ được mô tả trên đây có thể bao gồm các gốc liên kết mà linh động hoàn toàn hoặc linh động một phần, sao cho gốc liên kết này có thể bao gồm một gốc liên kết linh động cũng như một hoặc nhiều phần mà đem lại cấu trúc kém linh động hơn.

Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các multime scFv. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là dime scFv (ví dụ, bao gồm hai scFv nối tiếp (scFv₂)), trime scFv (ví dụ, bao gồm ba scFv nối tiếp (scFv₃)), tetrame scFv (ví dụ, bao gồm bốn scFv nối tiếp (scFv₄)), hoặc là multime có nhiều hơn bốn scFv (ví dụ, theo kiểu nối tiếp). Các monome scFv có thể được liên kết theo kiểu nối tiếp thông qua các gốc liên kết có chiều dài từ khoảng 2 axit amin đến khoảng 10 axit amin (aa), ví dụ, 2 aa, 3 aa, 4 aa, 5 aa, 6 aa, 7 aa, 8 aa, 9 aa, hoặc 10 aa. Các gốc liên kết thích hợp bao gồm, ví dụ, (Gly)_x, trong đó x là số nguyên từ 2 đến 10. Các gốc liên kết thích hợp khác là những loại được bàn luận trên đây. Theo một số phương án, mỗi monome trong số các monome scFv trong multime scFv đối tượng được nhân tính hóa, như được mô tả trên đây.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm vùng hằng định của globulin miễn dịch (ví dụ, vùng Fc). Vùng Fc, nếu có mặt, có thể là vùng Fc của người hoặc vùng Fc từ động vật bất kỳ mà có hệ thống bổ thể. Theo một số phương án, vùng Fc, nếu có mặt, là vùng Fc của người. Trong một số trường hợp, vùng Fc bao gồm một hoặc nhiều đột biến (ví dụ, các dạng thay thế axit amin) mà làm tăng ái lực của Fc đối với thụ thể Fc sơ sinh (FcRn); ví dụ, xem tài liệu: Monnet et al. (2015) *Front. Immunol.* 6:39. Các ví dụ về các dạng thay thế axit amin mà làm tăng ái lực của polypeptit Fc đối với FcRn bao gồm, ví dụ, dạng kết hợp của M428L và N434S; dạng kết hợp của M252Y, S254T, và T256E. Nếu các vùng hằng định có mặt, thì kháng thể có thể chứa cả vùng hằng định của chuỗi nhẹ và vùng hằng định của chuỗi nặng. Vùng hằng định của chuỗi nặng thích hợp bao gồm các vùng CH1, bản lề, CH2, CH3, và CH4. Các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể có tất cả các loại của

các vùng hằng định, bao gồm cả IgM, IgG, IgD, IgA và IgE, và kiểu tương đương bất kỳ, bao gồm cả IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4. Một ví dụ về vùng Fc chuỗi nặng thích hợp là kiểu tương đương Fc IgG1 của người. Một ví dụ khác về vùng Fc chuỗi nặng thích hợp là kiểu tương đương Fc IgG2a của người. Còn một ví dụ khác về vùng Fc chuỗi nặng thích hợp là kiểu tương đương Fc IgG2b của người. Các vùng hằng định của chuỗi nhẹ có thể là lambda hoặc kappa. Kháng thể đối tượng (ví dụ, kháng thể đối tượng được nhân tính hóa) có thể bao gồm các trình tự từ nhiều hơn một nhóm hoặc kiểu tương đương. Các kháng thể có thể được biểu hiện ở dạng các tetrame chứa hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng, ở dạng chuỗi nặng, chuỗi nhẹ tách biệt, ở dạng Fab, Fab' F(ab')₂, và Fv, hoặc ở dạng kháng thể chuỗi đơn lẻ mà trong đó miền biến đổi của chuỗi nặng và miền biến đổi của chuỗi nhẹ được liên kết thông qua đoạn đệm.

Trong một số trường hợp, vùng chuỗi nặng là của kiểu tương đương IgG4. Theo một số phương án trong số các phương án này, vùng bản lề bao gồm dạng thay thế S241P. Ví dụ, xem tài liệu: Angal et al. (1993) *Mol. Immunol.* 30:105. Theo một số phương án trong số các phương án này, vùng bản lề bao gồm dạng thay thế L236E. Ví dụ, xem tài liệu: Reddy et al. (2000) *J. Immunol.* 164:1925; và Klechevsky et al. (2010) *Blood* 116:1685. Theo một số phương án trong số các phương án này, vùng bản lề bao gồm dạng thay thế S241P và dạng thay thế L236E.

Kháng thể đối tượng có thể bao gồm nhóm thiol tự do (-SH) ở đầu tận cùng carboxyl, trong đó nhóm thiol tự do có thể được sử dụng để gắn kết kháng thể vào một polypeptit thứ hai (ví dụ, một kháng thể khác, bao gồm cả kháng thể đối tượng), khung, chất mang, v.v.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng bao gồm một hoặc nhiều axit amin không có trong tự nhiên. Theo một số phương án, axit amin được mã hóa theo kiểu phi tự nhiên bao gồm nhóm carbonyl, nhóm axetyl, nhóm aminooxy, nhóm hydrazin, nhóm hydrazit, nhóm semicarbazit, nhóm azit, hoặc nhóm alkyn. Ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 7,632,924 để biết về các axit amin không có trong tự nhiên thích hợp. Việc lấy vào axit amin không có trong tự nhiên có thể đem lại sự liên kết cho polyme, polypeptit thứ hai, khung, v.v. Ví dụ, có thể tạo ra kháng thể đối tượng được liên kết vào một polyme tan được trong nước bằng các polyme tan được trong nước (ví dụ, PEG) mà bao gồm nhóm carbonyl phản ứng với kháng thể, trong đó kháng thể này bao gồm axit amin được mã hóa theo kiểu phi tự nhiên mà bao gồm nhóm aminooxy, hydrazin, hydrazit hoặc

nhóm semicarbazit. Lấy một ví dụ khác, có thể tạo ra kháng thể đối tượng được liên kết vào một polyme tan được trong nước bằng cách cho kháng thể đối tượng mà bao gồm axit amin chứa alkyn phản ứng với polyme tan được trong nước (ví dụ, PEG) mà bao gồm gốc azit; trong một số trường hợp, nhóm azit hoặc nhóm alkyn được liên kết vào phân tử PEG thông qua sự liên kết amit. “Axit amin được mã hóa theo kiểu phi tự nhiên” được dùng để chỉ axit amin mà không phải là một trong số 20 axit amin phổ biến hoặc pyrolysin hoặc selenxystein. Các thuật ngữ khác mà có thể được sử dụng theo kiểu đồng nghĩa với thuật ngữ “axit amin được mã hóa theo kiểu phi tự nhiên” là “axit amin không tự nhiên”, “axit amin phi tự nhiên”, “axit amin không có trong tự nhiên”, và phiên bản được gạch nối theo cách khác nhau và phiên bản không được gạch nối của chúng. Thuật ngữ “axit amin được mã hóa theo kiểu phi tự nhiên” còn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các axit amin mà xảy ra bằng dạng cải biến (ví dụ, các dạng cải biến sau dịch mã) của axit amin được mã hóa theo kiểu tự nhiên (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 20 axit amin phổ biến hoặc pyrolysin và selenxystein) nhưng chính chúng không được sáp nhập theo kiểu tự nhiên vào chuỗi polypeptit đang tăng trưởng bằng phức hợp dịch mã. Các ví dụ về axit amin không có trong tự nhiên như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, N-acetylglucosaminyl-L-serin, N-acetylglucosaminyl-L-threonin, và O-phosphotyrosin.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được liên kết (ví dụ, được liên kết theo kiểu cộng hóa trị) vào polyme (ví dụ, polyme không phải là polypeptit). Các polyme thích hợp bao gồm, ví dụ, các polyme tương hợp sinh học, và các polyme tương hợp sinh học tan được trong nước. Các polyme thích hợp bao gồm các polyme tổng hợp và các polyme có trong tự nhiên. Các polyme thích hợp bao gồm, ví dụ, các polyme polyalkylen, polyalkenylen hoặc polyoxyalkylen được thể hoặc không được thể, mạch thẳng hoặc mạch phân nhánh hoặc các polysacarit phân nhánh hoặc không phân nhánh, ví dụ, homo-polysacarit hoặc hetero-polysacarit. Các polyme thích hợp bao gồm, ví dụ, copolyme rượu etylen vinyl (thường được biết đến bằng tên chung EVOH hoặc bằng tên thương mại EVAL); polybutylmetacrylat; poly(hydroxyvalerat); poly(axit L-lactic); polycaprolacton; poly(lactit-co-glycolit); poly(hydroxybutyrat); poly(hydroxybutyrat-co-valerat); polydioxanon; polyorthoeste; polyanhydrit; poly(axit glycolic); poly(axit D,L-lactic); poly(axit glycolic-co-trimetylen carbonat); polyphosphoeste; polyphosphoeste uretan; poly(các axit amin); xyanoacrylat; poly(trimetylen carbonat);

poly(iminocarbonat); copoly(ete-este) (ví dụ, các co-polymer poly(etylen oxit)-poly(axit lactic) (PEO/PLA)); polyalkylen oxalat; polyphosphazen; các phân tử sinh học, như fibrin, fibrinogen, xenluloza, tinh bột, collagen và axit hyaluronic; polyuretan; silicon; polyester; polyolefin; các copolymer etylen-alphaolefin và polyisobutylen; các copolymer và các polymer acrylic; các copolymer và các polymer vinyl halogenua, như polyvinyl clorua; các ete polyvinyl, như polyvinyl metyl ete; polyvinyliden halogenua, như polyvinyliden florua và polyvinyliden clorua; polyacrylonitril; polyvinyl keton; các hydrocarbon thơm polyvinyl, như polystyren; các este polyvinyl, như polyvinyl axetat; các copolymer của các monome vinyl với nhau và các olefin, như các copolymer etylen-metyl metacrylat, các copolymer acrylonitril-styren, nhựa ABS, và các copolymer etylen-vinyl axetat; các polyamit, như Nylon 66 và polycaprolactam; nhựa alkyt; polycarbonat; polyoxymetylen; polyimit; polyete; nhựa epoxy; polyuretan; tơ nhân tạo; tơ nhân tạo-triaxetat; xenluloza; xenluloza axetat; xenluloza butyrat; xenluloza axetat butyrat; xenlophan; xenluloza nitrat; xenluloza propionat; xenluloza ete; Teflon vô định hình; poly(etylen glycol); và carboxymetyl xenluloza.

Các polymer tổng hợp thích hợp bao gồm poly(propylenglycol) poly(rượu vinyl), poly(etylen glycol) mạch thẳng hoặc mạch phân nhánh, được thể và không được thể, và các dẫn xuất của chúng, ví dụ, poly(etylen glycol) được thể như metoxypoly(etylen glycol), và các dẫn xuất của chúng. Các polymer có trong tự nhiên thích hợp bao gồm, ví dụ, albumin, amyloza, dextran, glycogen, và các dẫn xuất của chúng.

Các polymer thích hợp có thể có trọng lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng là từ 500 Da đến 50.000 Da, ví dụ, từ 5.000 Da đến 40.000 Da, hoặc từ 25.000 đến 40.000 Da. Ví dụ, theo một số phương án, trong đó kháng thể đối tượng bao gồm polymer poly(etylen glycol) (PEG) hoặc metoxypoly(etylen glycol), polymer PEG hoặc metoxypoly(etylen glycol) có thể có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng là từ khoảng 0,5 kiloDalton (kDa) đến 1 kDa, từ khoảng 1 kDa đến 5 kDa, từ 5 kDa đến 10 kDa, từ 10 kDa đến 25 kDa, từ 25 kDa đến 40 kDa, hoặc từ 40 kDa đến 60 kDa.

Như đã nêu trên đây, theo một số phương án, kháng thể đối tượng được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào polymer tổng hợp không peptit. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào polymer PEG. Theo một số phương án, multimer scFv đối tượng được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào polymer PEG. Ví dụ,

xem tài liệu: Albrecht et al. (2006) *J. Immunol. Methods* 310:100. Các phương pháp và các chất phản ứng thích hợp cho quá trình PEG hóa protein là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được tìm thấy trong, ví dụ, Patent Mỹ số 5,849,860. PEG thích hợp cho phương pháp tiếp hợp vào protein thường là tan được trong nước ở nhiệt độ trong phòng, và có công thức tổng quát $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$, trong đó R là hydro hoặc một nhóm bảo vệ như nhóm alkyl hoặc nhóm alkanol, và trong đó n là số nguyên từ 1 đến 1.000. Trường hợp R là nhóm bảo vệ, thì nhóm này thường có từ 1 đến 8 carbon.

Theo một số phương án, PEG được tiếp hợp vào kháng thể đối tượng là tuyến tính. Theo một số phương án, PEG được tiếp hợp vào kháng thể đối tượng là phân nhánh. Các dẫn xuất PEG phân nhánh như những loại được mô tả trong tài liệu: Patent Mỹ số 5,643,575, “star-PEG's” và các PEG có nhiều nhánh như những loại được mô tả trong tài liệu: Shearwater Polymers, Inc. catalog “Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998”. Các PEG ngôi sao được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm cả, ví dụ, trong tài liệu: Patent Mỹ số 6,046,305.

Kháng thể đối tượng có thể được glycosyl hóa, ví dụ, kháng thể đối tượng có thể bao gồm gốc polysacarit hoặc carbohydrat được liên kết theo kiểu cộng hóa trị. Quá trình glycosyl hóa các kháng thể thông thường là được liên kết ở N hoặc được liên kết ở O. Được liên kết ở N được dùng để chỉ dạng gắn kết gốc carbohydrat vào chuỗi bên của gốc asparagin. Các trình tự tripeptit asparagin-X-serin và asparagin-X-threonin, trong đó X là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin, là các trình tự nhận biết dùng cho dạng gắn kết gốc carbohydrat bằng enzym vào chuỗi bên asparagin. Vì vậy, sự có mặt của một trong hai trình tự trong số các trình tự tripeptit này trong polypeptit tạo ra vị trí glycosyl hóa tiềm năng. Quá trình glycosyl hóa được liên kết ở O được dùng để chỉ dạng gắn kết một trong số các loại đường là N-axetylgalactosamin, galactosa, hoặc xyloza vào axit amin hydroxy, thông thường nhất là serin hoặc threonin, mặc dù 5-hydroxyprolin hoặc 5-hydroxylysin cũng có thể được sử dụng.

Việc bổ sung các vị trí glycosyl hóa vào kháng thể được thực hiện một cách thuận tiện bằng cách thay đổi trình tự axit amin sao cho trình tự này chứa một hoặc nhiều trình tự trong số các trình tự tripeptit được mô tả trên đây (đối với các vị trí glycosyl hóa được liên kết ở N). Cũng có thể tạo ra sự thay đổi bằng việc bổ sung, hoặc thay thế một hoặc nhiều gốc serin hoặc threonin vào trình tự của kháng thể ban đầu (đối với các vị trí glycosyl hóa được liên kết ở O). Theo cách tương tự, có thể thực hiện việc loại bỏ các vị

trí glycosyl hóa bằng sự thay đổi axit amin trong các vị trí glycosyl hóa nguyên thể của kháng thể.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng sẽ bao gồm chất đánh dấu “chắn bức xạ”, ví dụ, một chất đánh dấu mà có thể làm hiển thị một cách dễ dàng bằng cách sử dụng, ví dụ, x quang. Các chất liệu chắn bức xạ là đã biết rõ đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất liệu chắn bức xạ thông thường nhất bao gồm các muối ioda, bromua hoặc bari. Các chất liệu chắn bức xạ khác thì cũng đã biết và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các dẫn xuất bismut hữu cơ (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 5,939,045), các multiuretan chắn bức xạ (xem Patent Mỹ số 5,346,981), các chất đa hợp bismut hữu cơ (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 5,256,334), các phức hợp multime bari chắn bức xạ (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 4,866,132), và các chất tương tự.

Kháng thể đối tượng có thể được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào một gốc thứ hai (ví dụ, lipid, polypeptit không phải là kháng thể đối tượng, polyme tổng hợp, carbohydrat, và các chất tương tự) bằng cách sử dụng, ví dụ, glutaraldehyt, gốc liên kết ngang có hai nhóm chức giống nhau, hoặc gốc liên kết ngang có hai nhóm chức khác nhau. Glutaraldehyt liên kết ngang các polypeptit thông qua các gốc amin của chúng. Gốc liên kết ngang có hai nhóm chức giống nhau (ví dụ, imiteste có hai nhóm chức giống nhau, este N-hydroxysuxinimidyl (NHS) có hai nhóm chức giống nhau, hoặc gốc liên kết ngang có tính phản ứng với sulfhydryl có hai nhóm chức giống nhau) chứa hai gốc có tính phản ứng đồng nhất hoặc nhiều hơn nữa và có thể được sử dụng trong quy trình phản ứng một bước mà trong đó gốc liên kết ngang được bổ sung vào dung dịch chứa hỗn hợp của các polypeptit sẽ được liên kết. Este NHS có hai nhóm chức giống nhau và các este imit liên kết ngang các polypeptit chứa amin. Trong độ pH kiềm nhẹ, các este imit phản ứng chỉ với các amin bậc nhất để tạo các imitamit, và điện tích tổng thể của các polypeptit đã được liên kết ngang không bị ảnh hưởng đến. Gốc liên kết ngang có tính phản ứng với sulfhydryl có hai nhóm chức giống nhau bao gồm bismaleimidhexan (BMH), 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen (DFDNB), và 1,4-di-(3',2'-pyridyldithio) propinoamit butan (DPDPB).

Các gốc liên kết ngang có hai nhóm chức khác nhau có hai gốc có tính phản ứng khác nhau hoặc nhiều hơn nữa (ví dụ, gốc có tính phản ứng với amin và gốc có tính phản ứng với sulfhydryl) và được liên kết ngang với một trong số các polypeptit thông qua gốc có tính phản ứng với amin hoặc gốc có tính phản ứng với sulfhydryl, sau đó, được cho

phản ứng với polypeptit khác thông qua gốc không phản ứng. Nhiều gốc liên kết ngang haloaxetyl có hai nhóm chức khác nhau là sẵn có, như là gốc liên kết ngang pyridyl disulfua. Các carbodiimide là ví dụ điển hình về các chất phản ứng liên kết ngang có hai nhóm chức khác nhau dùng cho việc liên hợp các carboxyl vào các amin, điều này đem lại một liên kết amit.

Kháng thể đối tượng có thể được làm bất động trên giá đỡ rắn. Các giá đỡ thích hợp là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, trong số những điều khác, các chất liệu cột có bán trên thị trường, các hạt polystyren, các hạt latex, các hạt từ tính, các hạt kim loại chất keo, các mảnh thủy tinh và/hoặc silicon và các bề mặt, các dải nitroxenluloza, các màng ni lông, tẩm, duracyte, các lỗ của khay phản ứng (ví dụ, đĩa đa lỗ), ống nhựa, v.v. Giá đỡ rắn có thể bao gồm bất kỳ trong số một loạt chất, bao gồm cả, ví dụ, thủy tinh, polystyren, polyvinyl clorua, polypropylen, polyetylen, polycarbonat, dextran, ni lông, amyloza, các xenluloza được cải biến và tự nhiên, polyacrylamit, agarosa, và quặng sắt từ. Các phương pháp thích hợp dùng để làm bất động kháng thể đối tượng lên trên giá đỡ rắn là đã biết rõ và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương pháp tương tác ion, kỵ nước, cộng hóa trị và các phương pháp tương tự. Các giá đỡ rắn có thể là tan được hoặc không tan, ví dụ, trong dung dịch nước. Theo một số phương án, giá đỡ rắn thích hợp thường là không tan trong dung dịch nước.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng sẽ bao gồm chất đánh dấu có thể phát hiện được. Các chất đánh dấu có thể phát hiện được thích hợp bao gồm chế phẩm bất kỳ có thể phát hiện được bằng các phương tiện kính quang phổ, quang hóa học, sinh hóa, hóa học miễn dịch, điện, quang học hoặc hóa học. Chất đánh dấu thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hạt từ tính (ví dụ, Dynabeads™), các thuốc nhuộm huỳnh quang (ví dụ, florescein isothioxyanat, chất Texas Red, rodamin, protein huỳnh quang xanh lục, protein huỳnh quang đỏ, protein huỳnh quang vàng, và các chất tương tự), các chất đánh dấu phóng xạ (ví dụ, ^3H , ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C , hoặc ^{32}P), các enzym (ví dụ, peroxidaza cải ngựa, phosphataza kiềm, luxiferaza, và các chất khác thường được sử dụng trong thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA)), và các chất đánh dấu so màu như các hạt vàng dạng keo hoặc thủy tinh được tạo màu hoặc nhựa (ví dụ polystyren, polypropylen, latex, v.v.).

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng bao gồm chất tương phản hoặc chất đồng vị phóng xạ, trong đó chất tương phản hoặc chất đồng vị phóng xạ này là chất mà

thích hợp để sử dụng trong việc xử lý hình ảnh, ví dụ, các quy trình xử lý hình ảnh được thực hiện ở người. Các ví dụ không giới hạn về chất đánh dấu bao gồm chất đồng vị phóng xạ như ^{123}I (iot), ^{18}F (flo), ^{99}Tc (tecnети), ^{111}In (indi), và ^{67}Ga (gali), và chất tương phản như gadolini (Gd), dysprosi, và sắt. Các chất đồng vị Gd có hoạt tính phóng xạ (^{153}Gd) thì cũng sẵn có và thích hợp cho các quy trình xử lý hình ảnh ở động vật có vú không phải người. Kháng thể đối tượng có thể được đánh dấu bằng cách sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn. Ví dụ, kháng thể đối tượng có thể được iot hóa bằng cách sử dụng cloramin T hoặc 1,3,4,6-tetraclo-3 α ,6 α -diphenylglycouril. Đối với quá trình flo hóa, flo được bổ sung vào kháng thể đối tượng trong suốt quá trình tổng hợp bằng phản ứng thế ion florua. Xem tài liệu: Muller-Gartner, H., TIB Tech., 16:122-130 (1998) và Saji, H., Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 16(2):209-244 (1999) để tìm hiểu về phương pháp tổng hợp các protein bằng các chất đồng vị phóng xạ như vậy. Kháng thể đối tượng cũng có thể được đánh dấu bằng chất tương phản thông qua các kỹ thuật tiêu chuẩn. Ví dụ, kháng thể đối tượng có thể được đánh dấu bằng Gd bằng cách tiếp hợp các Gd chelat phân tử thấp như Gd dietylen triamin pentaaxit axetic (GdDTPA) hoặc Gd tetraazaxyclododecantetraaxetic (GdDOTA) vào kháng thể. Xem tài liệu: Caravan et al., Chem. Rev. 99:2293-2352 (1999) và Lauffer et al., J. Magn. Reson. Imaging, 3:11-16 (1985). Kháng thể đối tượng có thể được đánh dấu bằng Gd bằng cách, ví dụ, tiếp hợp polylysin-Gd chelat vào kháng thể. Ví dụ, xem tài liệu: Curtet et al., Invest. Radiol., 33(10):752-761 (1998). Theo cách khác, kháng thể đối tượng có thể được đánh dấu bằng Gd bằng cách ủ các liposom được polyme hóa thuận từ mà bao gồm lipit tạo chelat Gd với avidin và kháng thể được biotin hóa. Ví dụ, xem tài liệu: Sipkins et al., Nature Med., 4:623-626 (1998).

Các protein huỳnh quang thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, protein huỳnh quang xanh lục (GFP) hoặc các biến thể của nó, biến thể huỳnh quang xanh lam của GFP (BFP), biến thể huỳnh quang xanh lơ của GFP (CFP), biến thể huỳnh quang màu vàng của GFP (YFP), GFP được tăng cường (EGFP), CFP được tăng cường (ECFP), YFP được tăng cường (EYFP), GFPS65T, Emerald, Topaz (TYFP), Venus, Citrine, mCitrine, GFPuv, EGFP được làm mất ổn định (dEGFP), ECFP được làm mất ổn định (dECFP), EYFP được làm mất ổn định (dEYFP), mCFPm, Cerulean, T-Sapphire, CyPet, YPet, mKO, HcRed, t-HcRed, DsRed, DsRed2, monome-DsRed, J-Red, dime 2, t-dime 2(12), mRFP1, pocilloporin, Renilla GFP, Monster GFP, paGFP, protein Kaede và

protein nhen nhóm, các phycobiliprotein và các thể tiếp hợp Phycobiliprotein bao gồm cả B-Phycoerythrin, R-Phycoerythrin và Allophycocyanin. Các ví dụ khác về các protein huỳnh quang bao gồm mHoneydew, mBanana, mOrange, dTomato, tdTomato, mTangerine, mStrawberry, mCherry, mGrape1, mRaspberry, mGrape2, mPlum (Shaner et al. (2005) *Nat. Methods* 2:905-909), và các chất tương tự. Chất bất kỳ trong số một loạt protein được tạo màu và huỳnh quang từ loài San hô, như được mô tả trong, ví dụ, Matz et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:969-973, là thích hợp để sử dụng.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được tiếp hợp với tác nhân trị liệu. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể đối tượng được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được sử dụng để tạo thể tiếp hợp kháng thể-chất trị liệu. Chất này có thể được gắn kết vào đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ, đầu tận cùng C của chuỗi nhẹ, đầu tận cùng N của chuỗi nặng, hoặc đầu tận cùng C của chuỗi nặng. Theo một số phương án, chất này được gắn kết vào bản lề của kháng thể hoặc vào một hoặc nhiều vị trí khác trên kháng thể. Đối với kháng thể chuỗi đơn lẻ, chất này có thể được gắn kết vào đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của kháng thể chuỗi đơn lẻ này. Chất này có thể được tiếp hợp vào kháng thể một cách trực tiếp hoặc thông qua gốc liên kết bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Gốc liên kết có thể là có thể phân cắt được hoặc không thể phân cắt được. Các ví dụ về các tác nhân trị liệu như vậy (ví dụ, để sử dụng trong liệu pháp) là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng sẽ được liên kết vào (ví dụ, được liên kết theo kiểu cộng hóa trị hoặc theo kiểu không cộng hóa trị) một đối tác dung hợp, ví dụ, phối tử; thể epitop; peptit; protein không phải là kháng thể; và các chất tương tự. Các đối tác dung hợp thích hợp bao gồm các peptit và các polypeptit mà đem lại tính ổn định *in vivo* được tăng cường (ví dụ, thời gian bán hủy trong huyết thanh được tăng cường); đem lại sự dễ dàng tinh chế, ví dụ, (His)_n, ví dụ, 6His, và các chất tương tự; đem lại sự tiết protein dung hợp từ tế bào; đem lại thể epitop, ví dụ, GST, hemagglutinin (HA; ví dụ, YPYDVPDYA; SEQ ID NO:83), FLAG (ví dụ, DYKDDDDK; SEQ ID NO:84), c-myc (ví dụ, EQKLISEEDL; SEQ ID NO:85), và các chất tương tự; đem lại tín hiệu có thể phát hiện được, ví dụ, một enzym mà tạo ra sản phẩm có thể phát hiện được (ví dụ, β -galactosidaza, luxiferaza), hoặc protein mà chính nó là có thể phát hiện được, ví dụ, protein huỳnh quang xanh lục, protein huỳnh quang đỏ, protein huỳnh quang vàng, v.v.; đem lại quá trình multimer hóa, ví dụ, một miền multimer hóa như phần Fc của globulin

miễn dịch; và các chất tương tự.

Dạng dung hợp cũng có thể bao gồm miền ái lực, bao gồm cả các trình tự peptit mà có thể tương tác với đối tác liên kết, ví dụ, như một đối tác liên kết được làm bất động trên giá đỡ rắn, hữu ích cho việc nhận diện hoặc tinh chế. Các axit amin đơn lẻ liên tiếp, như histidin, khi được dung hợp vào protein, có thể được sử dụng cho quá trình tinh chế một bước protein dung hợp bằng khả năng liên kết ái lực cao vào cột nhựa, như niken sepharosa. Các miền ái lực làm ví dụ bao gồm His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:86), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:87), C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:88), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:85), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:89), hemagglutinin, ví dụ, Thử HA (YPYDVPDYA; SEQ ID NO:90), glutathion-S-transferaza (GST), thioredoxin, miền liên kết xenluloza, RYIRS (SEQ ID NO:91), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:92), miền liên kết chitin, peptit-S, peptit T7, miền SH2, thử ARN đầu mút C, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:93), các miền liên kết kim loại, ví dụ, các miền liên kết kẽm hoặc các miền liên kết canxi như những loại từ các protein liên kết canxi, ví dụ, calmodulin, troponin C, canxineurin B, chuỗi nhẹ myosin, recoverin, S-modulin, visinin, VILIP, neurocalcin, hippocalcin, frequenin, caltractin, đơn vị con lớn của calpain, các protein S100, parvalbumin, calbindin D9K, calbindin D28K, và calretinin, intein, biotin, streptavidin, MyoD, các trình tự khóa kéo leuxin, và protein liên kết mantoza.

Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được tạo dạng chế phẩm với một chất mà tạo thuận lợi cho quá trình băng qua hàng rào máu-não (blood-brain barrier-BBB). Theo một số phương án, kháng thể này được dung hợp, một cách trực tiếp hoặc thông qua gốc liên kết, vào một hợp chất mà thúc đẩy quá trình băng qua BBB. Các ví dụ về hợp chất như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân tử mang, peptit, hoặc protein. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này sẽ được dung hợp vào polypeptit mà liên kết thụ thể BBB nội sinh. Việc liên kết kháng thể kháng Bb theo sáng chế này vào polypeptit mà liên kết thụ thể BBB nội sinh tạo thuận lợi cho quá trình băng qua BBB, ví dụ, trong phương pháp điều trị đối tượng (xem dưới đây) liên quan đến việc cho cá thể cần đến phương pháp này dùng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này. Các polypeptit thích hợp mà liên kết thụ thể BBB nội sinh bao gồm các kháng thể, ví dụ, các kháng thể đơn dòng, hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng, mà liên kết đặc hiệu thụ thể BBB nội sinh. Các thụ thể BBB nội sinh

thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thụ thể insulin, thụ thể transferin, thụ thể leptin, thụ thể lipoprotein, và thụ thể yếu tố tăng trưởng giống như insulin. Ví dụ, xem tài liệu: Công bố Patent Mỹ số 2009/0156498.

Lấy ví dụ, kháng thể kháng Bb đối tượng có thể là kháng thể song đặc hiệu bao gồm phần liên kết kháng nguyên thứ nhất mà liên kết một cách đặc hiệu epitop ở protein Bb bề mặt; và phần liên kết kháng nguyên thứ hai mà liên kết thụ thể BBB nội sinh. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb đối tượng là kháng thể song đặc hiệu bao gồm phần liên kết kháng nguyên thứ nhất mà liên kết một cách đặc hiệu epitop ở protein Bb; và phần liên kết kháng nguyên thứ hai mà liên kết thụ thể transferin.

Ví dụ, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này có thể được dung hợp vào peptit mà tạo thuận lợi cho quá trình băng qua BBB, peptit có chiều dài là từ khoảng 15 axit amin đến khoảng 25 axit amin, và bao gồm trình tự axit amin mà đồng nhất ít nhất khoảng 85% về trình tự axit amin với một trong số các peptit sau đây: Angiopep-1 (TFFYGGCRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:93); Angiopep-2 (TFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:94); cys-Angiopep-2 (CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY) (SEQ ID NO:95); Angiopep-2-cys (TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC) (SEQ ID NO:96); và đoạn aprotinin (TFVYGGCRAKRNNFKS) (SEQ ID NO:97). Ví dụ, xem tài liệu: các Công bố Patent Mỹ số 2011/0288011; và 2009/0016959. Peptit mà tạo thuận lợi cho quá trình băng qua BBB có thể được dung hợp vào đầu tận cùng N của vùng chuỗi nhẹ kháng Bb, vào đầu tận cùng C của vùng chuỗi nhẹ kháng Bb, vào đầu tận cùng N của vùng chuỗi nặng kháng Bb, vào đầu tận cùng C của vùng chuỗi nặng kháng Bb, vào đầu tận cùng N của kháng thể chuỗi đơn lẻ kháng Bb đối tượng, vào đầu tận cùng C của kháng thể chuỗi đơn lẻ kháng Bb đối tượng, v.v.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng bao gồm dạng cải biến polyamin. Dạng cải biến polyamin của kháng thể đối tượng tăng cường độ thâm của kháng thể được cải biến ở BBB. Kháng thể đối tượng có thể được cải biến bằng các polyamin mà có trong tự nhiên hoặc tổng hợp. Ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 5,670,477. Các polyamin có trong tự nhiên hữu ích bao gồm putrescine, spermidin, spermin, 1,3-diaminopropan, norspermidin, syn-homospermidin, thermin, thermospermin, caldopentamin, homocaldopentamin, và canavalmin. Putrescine, spermidin và spermin thì đặc biệt hữu ích. Các polyamin tổng hợp được hợp thành từ công thức thực nghiệm $C_xH_yN_z$, có thể là

các chuỗi hydrocarbon dạng vòng hoặc dạng không vòng, phân nhánh hoặc không phân nhánh có 3-12 nguyên tử carbon mà còn bao gồm các gốc 1-6 NR hoặc $N(R)_2$, trong đó R là H, (C_1-C_4) alkyl, phenyl, hoặc benzyl. Các polyamin có thể được liên kết vào kháng thể bằng cách sử dụng phương pháp liên kết ngang tiêu chuẩn bất kỳ.

Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được cải biến để bao gồm gốc carbohydrat, trong đó gốc carbohydrat có thể được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào kháng thể. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được cải biến để bao gồm gốc lipid, trong đó gốc lipid này có thể được liên kết theo kiểu cộng hóa trị vào kháng thể. Các gốc lipid thích hợp bao gồm, ví dụ, nhóm N-axyl béo như N-lauroyl, N-oleoyl, v.v.; amin béo như amin dodexyl, amin oleoyl, v.v.; lipid béo chuỗi dài C3-C16; và các chất tương tự. Ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 6,638,513). Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được sáp nhập (ví dụ, được đóng nang) vào liposom.

Các phương pháp sản xuất kháng thể đối tượng

Có thể sản xuất kháng thể đối tượng (kháng thể kháng Bb theo sáng chế này) bằng phương pháp đã biết bất kỳ, ví dụ, các phương pháp tổng hợp thông thường dùng cho quá trình tổng hợp protein; các phương pháp ADN tái tổ hợp; v.v. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được tạo ra bằng phương pháp được chọn lựa từ nhóm gồm phương pháp sản xuất tái tổ hợp và phương pháp tổng hợp hóa học.

Trường hợp kháng thể đối tượng là polypeptit chuỗi đơn lẻ, thì có thể tổng hợp kháng thể này bằng cách sử dụng các kỹ thuật tổng hợp peptit hóa học tiêu chuẩn. Trường hợp polypeptit được tổng hợp về phương diện hóa học, thì quá trình tổng hợp này có thể diễn tiến thông qua pha lỏng hoặc pha rắn. Phương pháp tổng hợp polypeptit pha rắn (solid phase polypeptide synthesis-SPPS), mà trong đó axit amin đầu tận cùng C của trình tự này được gắn kết vào giá đỡ không tan, sau đó là bổ sung tuần tự các axit amin còn lại trong trình tự, là một ví dụ về phương pháp thích hợp dùng cho việc tổng hợp hóa học đối với kháng thể đối tượng. Các dạng khác nhau của SPPS, như Fmoc và Boc, là sẵn có cho việc tổng hợp kháng thể đối tượng. Các kỹ thuật của phương pháp tổng hợp pha rắn được mô tả bởi Barany and Merrifield, Solid-Phase Peptide Synthesis; pp. 3-284 trong The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol. 2: Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Merrifield, et al. J. Am. Chem. Soc., 85: 2149-2156 (1963); Stewart et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. (1984); và Ganesan A. 2006 *Mini Rev. Med Chem.* 6:3-10 và Camarero JA et al. 2005 *Protein Pept*

Lett. 12:723-8. Nói một cách vắn gọn, các hạt xấp nhỏ, không tan được xử lý bằng các đơn vị chức năng mà các chuỗi peptit được xây dựng trên đó. Sau khi xoay vòng lặp lại quá trình liên hợp/khử bảo vệ, thì amin đầu tận cùng N tự do của pha rắn được gắn kết được liên hợp vào một đơn vị axit amin được bảo vệ ở N đơn lẻ. Sau đó, đơn vị này được khử bảo vệ, biểu lộ một amin đầu tận cùng N mới mà một axit amin khác nữa có thể được gắn kết vào đó. Peptit này vẫn còn bất động trên pha rắn và trải qua quy trình lọc trước khi được phân cắt ra.

Các phương pháp tái tổ hợp tiêu chuẩn có thể được sử dụng cho việc sản xuất kháng thể đối tượng. Ví dụ, các axit nucleic mã hóa vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng, tùy ý được liên kết vào các vùng hằng định, được chèn vào vật truyền biểu hiện. Chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có thể được tạo dòng vô tính trong cùng một vật truyền biểu hiện hoặc các vật truyền biểu hiện khác nhau. Các đoạn ADN mã hóa chuỗi globulin miễn dịch được liên kết theo kiểu có thể hoạt động được vào các trình tự kiểm soát trong (các) vật truyền biểu hiện mà đảm bảo quá trình biểu hiện của các polypeptit globulin miễn dịch. Các trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các gen khởi đầu (ví dụ, gen khởi đầu gắn liền theo kiểu tự nhiên hoặc gen khởi đầu khác nguồn gốc), các trình tự tín hiệu, các yếu tố tăng cường, các yếu tố áp chế, và các trình tự chấm dứt quá trình phiên mã. Các trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện có thể là các hệ thống gen khởi đầu sinh vật nhân thực trong vật truyền có khả năng biến nạp hoặc chuyển nhiễm các tế bào nhân thực chủ (ví dụ, các tế bào COS hoặc CHO). Một khi vật truyền đã được sáp nhập vào vật chủ thích hợp, thì vật chủ này được duy trì trong các điều kiện thích hợp cho quá trình biểu hiện ở mức cao của các trình tự nucleotit, và quá trình thu gom và quá trình tinh chế các kháng thể.

Bởi vì sự thoái hóa của mã, nên một loạt trình tự axit nucleic có thể mã hóa mỗi trình tự axit amin của globulin miễn dịch. Có thể sản xuất các trình tự axit nucleic mong muốn bằng phương pháp tổng hợp ADN pha rắn mới hoàn toàn hoặc bằng phương pháp gây đột biến bằng phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) một biến thể được điều chế sớm hơn của polynucleotit mong muốn này. Phương pháp gây đột biến do oligonucleotit làm trung gian là một ví dụ về phương pháp thích hợp cho việc điều chế các biến thể thay thế, xóa bỏ và chèn của polypeptit ADN đích. Xem tài liệu: Adelman et al., *DNA* 2:183 (1983). Nói một cách vắn gọn, polypeptit ADN đích được thay đổi bằng cách lai oligonucleotit mã hóa đột biến mong muốn với khuôn mẫu ADN có dải đơn lẻ. Sau khi

lai, ADN polymeraza được sử dụng để tổng hợp toàn bộ dải bổ trợ thứ hai của khuôn mẫu mà sáp nhập đoạn môi oligonucleotit, và mã hóa dạng thay đổi đã được chọn lựa trong polypeptit ADN đích.

Vật truyền biểu hiện thích hợp thường là có thể sao chép được trong các sinh vật chủ hoặc ở dạng episom hoặc ở dạng phần không thể tách rời của ADN nhiễm sắc thể vật chủ. Thông thường là, vật truyền biểu hiện chứa các gen đánh dấu chọn lựa (ví dụ, gen đánh dấu kháng ampicilin, kháng hygromycin, kháng tetracyclin, kháng kanamycin hoặc kháng neomycin) để cho phép phát hiện các tế bào được biến nạp bằng các trình tự ADN mong muốn.

Escherichia coli là một ví dụ về tế bào nhân sơ chủ mà có thể được sử dụng cho việc nhân tính hóa polynucleotit mã hóa kháng thể đối tượng. Các vật chủ vi sinh vật khác thích hợp để sử dụng bao gồm các loài bacillus, như *Bacillus subtilis*, và họ trực khuẩn đường ruột khác, như *Salmonella*, *Serratia*, và các loài *Pseudomonas* khác nhau. Trong các vật chủ nhân sơ này, ta cũng có thể tạo ra vật truyền biểu hiện, vật truyền này thường sẽ chứa các trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện tương hợp với tế bào chủ (ví dụ, điểm khởi đầu sao chép). Ngoài ra, số bất kỳ trong số một loạt gen khởi đầu đã biết rõ sẽ có mặt, như hệ thống gen khởi đầu lactoza, hệ thống gen khởi đầu tryptophan (trp), hệ thống gen khởi đầu beta-lactamaza, hoặc hệ thống gen khởi đầu từ thể thực khuẩn lambda. Các gen khởi đầu thường sẽ kiểm soát quá trình biểu hiện, tùy ý, bằng trình tự vùng chỉ huy, và có các trình tự vị trí liên kết ribosom và các trình tự tương tự, dùng để khởi đầu và hoàn thành quá trình phiên mã và quá trình dịch mã.

Các vi sinh vật khác, như nấm men, thì cũng hữu ích cho quá trình biểu hiện. *Saccharomyces* (ví dụ, *S. cerevisiae*) và *Pichia* là các ví dụ về tế bào chủ nấm men thích hợp, mà các vật truyền thích hợp có các trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện (ví dụ, các gen khởi đầu), điểm khởi đầu sao chép, các trình tự chấm dứt và các trình tự tương tự như mong muốn. Các gen khởi đầu điển hình bao gồm 3-phosphoglyxerat kinaza và các enzym phân giải đường khác. Các gen khởi đầu nấm men có thể kích thích được bao gồm, trong số các thể loại khác, các gen khởi đầu từ dehydrogenaza rượu, đẳng sắc tố tế bào C, và các enzym chịu trách nhiệm về việc sử dụng mantoza và galactoza.

Ngoài các vi sinh vật ra, các tế bào động vật có vú (ví dụ, các tế bào động vật có vú được làm tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy tế bào *in vitro*) cũng có thể được sử dụng để biểu hiện và sản xuất kháng thể kháng Bb theo sáng chế này (ví dụ, các

polynucleotit mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng). Xem tài liệu: Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y. (1987). Các tế bào động vật có vú chủ thích hợp bao gồm các dòng tế bào CHO, các dòng tế bào Cos khác nhau, các tế bào HeLa, các dòng tế bào u tủy, và các tế bào B được biến nạp hoặc các khối tế bào lai. Vật truyền biểu hiện dùng cho các tế bào này có thể bao gồm các trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện, như điểm khởi đầu sao chép, gen khởi đầu, và yếu tố tăng cường (Queen et al., Immunol. Rev. 89:49 (1986)), và vị trí xử lý thông tin cần thiết, như vị trí liên kết ribosom, vị trí tách ghép vùng nội ARN, vị trí polyadenyl hóa, và trình tự chấm dứt phiên mã. Các ví dụ về trình tự kiểm soát quá trình biểu hiện thích hợp là các gen khởi đầu được tạo ra từ các gen globulin miễn dịch, SV40, adenovirut, virut gây u nhú ở bò, virut cự bào và các gen tương tự. Xem tài liệu: Co et al., J. Immunol. 148:1149 (1992).

Một khi được tổng hợp (hoặc về phương diện hóa học hoặc theo kiểu tái tổ hợp), các kháng thể nguyên, các dime của chúng, chuỗi nhẹ và chuỗi nặng riêng biệt, hoặc các dạng khác của kháng thể đối tượng (ví dụ, scFv, v.v.) có thể được tinh chế theo các quy trình tiêu chuẩn thuộc lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm cả quá trình kết tủa amoni sulfat, cột ái lực, sắc ký cột, quá trình tinh chế sắc ký lỏng hiệu suất cao (high performance liquid chromatography-HPLC), quá trình điện di trên gel, và các phương pháp tương tự (nhìn chung, xem tài liệu: Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982))). Kháng thể đối tượng về cơ bản có thể là tinh khiết, ví dụ, tinh khiết ít nhất khoảng 80% đến 85%, tinh khiết ít nhất khoảng 85% đến 90%, tinh khiết ít nhất khoảng 90% đến 95%, hoặc tinh khiết 98% đến 99%, hoặc cao hơn nữa, ví dụ, không có các chất gây bẩn như mảnh vỡ tế bào, các đại phân tử không phải là kháng thể đối tượng, v.v.

Các chế phẩm

Sáng chế này đề xuất chế phẩm bao gồm kháng thể kháng Bb theo sáng chế này. Chế phẩm kháng thể đối tượng có thể bao gồm, ngoài kháng thể đối tượng ra, một hoặc nhiều chất trong số: muối, ví dụ, NaCl, MgCl₂, KCl, MgSO₄, v.v.; chất đệm, ví dụ, dung dịch đệm Tris, N-(2-Hydroxyetyl)piperazin-N'-(axit 2-etansulfonic) (HEPES), axit 2-(N-Morpholino)etansulfonic (MES), muối natri của axit 2-(N-Morpholino)etansulfonic (MES), axit 3-(N-Morpholino)propansulfonic (MOPS), axit N-tris[Hydroxymetyl]metyl-3-aminopropansulfonic (TAPS), v.v.; chất làm tan; chất tẩy, ví dụ, chất tẩy không ion như Tween-20, v.v.; chất ức chế proteaza; glyxerol; và các chất tương tự.

Phân tử axit nucleic, vật truyền biểu hiện, và tế bào chủ

Sáng chế này đề xuất các phân tử axit nucleic bao gồm các trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng Bb theo sáng chế này.

Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ mà đồng nhất về trình tự axit amin ít nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:23, và SEQ ID NO:30. Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:23, và SEQ ID NO:30.

Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng mà đồng nhất về trình tự axit amin ít nhất 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:24, và SEQ ID NO:31. Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:24, và SEQ ID NO:31.

Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3 ở một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, và SEQ ID NO:11; SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, và SEQ ID NO:19; và SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:2, và SEQ ID NO:26.

Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit mà mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3 ở một dạng kết hợp trong số các dạng kết hợp sau đây: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, và SEQ ID NO:6; SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, và SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, và SEQ ID NO:22; SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, và SEQ ID NO:29.

Theo một số phương án, axit nucleic theo sáng chế này bao gồm trình tự nucleotit

mã hóa kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng.

Axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đối tượng có thể được liên kết theo kiểu có thể hoạt động được vào một hoặc nhiều yếu tố điều hòa, như gen khởi đầu và yếu tố tăng cường, mà cho phép biểu hiện trình tự nucleotit trong các tế bào đích được dự định (ví dụ, tế bào mà được cải biến gen để tổng hợp kháng thể đã được mã hóa).

Gen khởi đầu và yếu tố tăng cường thích hợp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các gen khởi đầu thích hợp để sử dụng trong các tế bào nhân sơ chủ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gen khởi đầu ARN polymeraza thể thực khuẩn T7; gen khởi đầu T3; gen khởi đầu T5; gen khởi đầu P lambda; gen khởi đầu trp; gen khởi đầu operon lac; gen khởi đầu lai, ví dụ, gen khởi đầu lai lac/tac, gen khởi đầu lai tac/trc, gen khởi đầu trp/lac, gen khởi đầu T7/lac; gen khởi đầu trc; gen khởi đầu tac, và các gen tương tự; gen khởi đầu gpt; gen khởi đầu araBAD; các gen khởi đầu đã được điều hòa *in vivo*, như gen khởi đầu *ssaG* hoặc gen khởi đầu có liên quan (ví dụ, xem tài liệu: Công bố Patent Mỹ số 20040131637), gen khởi đầu *pagC* (Pulkkinen and Miller, *J. Bacteriol.*, 1991 : 173(1): 86-93; Alpuche-Aranda et al., PNAS, 1992; 89(21): 10079-83), gen khởi đầu *nirB* (Harborne et al. (1992) *Mol. Micro.* 6:2805-2813), và các gen tương tự (ví dụ, xem tài liệu: Dunstan et al. (1999) *Infect. Immun.* 67:5133-5141; McKelvie et al. (2004) *Vaccine* 22:3243-3255; và Chatfield et al. (1992) *Biotechnol.* 10:888-892); gen khởi đầu sigma70, ví dụ, gen khởi đầu sigma70 liên ứng (ví dụ, xem: các Sổ Truy cập GenBank: AX798980, AX798961, và AX798183); gen khởi đầu pha tĩnh, ví dụ, gen khởi đầu *dps*, gen khởi đầu *spv*, và các gen tương tự; gen khởi đầu được tạo ra từ đảo có tính sinh bệnh SPI-2 (ví dụ, xem tài liệu: WO96/17951); gen khởi đầu actA (ví dụ, xem tài liệu: Shetron-Rama et al. (2002) *Infect. Immun.* 70:1087-1096); gen khởi đầu rpsM (ví dụ, xem tài liệu: Valdivia and Falkow (1996). *Mol. Microbiol.* 22:367); gen khởi đầu tet (ví dụ, xem tài liệu: Hillen, W. and Wissmann, A. (1989) trong tài liệu: Saenger, W. and Heinemann, U. (eds), *Topics in Molecular and Structural Biology, Protein-Nucleic Acid Interaction*. Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143-162); gen khởi đầu SP6 (ví dụ, xem tài liệu: Melton et al. (1984) *Nucl. Acids Res.* 12:7035); và các chất tương tự. Các gen khởi đầu mạnh thích hợp để sử dụng ở các sinh vật nhân sơ như *Escherichia coli* bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở Trc, Tac, T5, T7, và P_{Lambda}. Các ví dụ không giới hạn

về vùng chỉ huy để sử dụng ở các tế bào vi khuẩn chủ bao gồm vùng chỉ huy gen khởi đầu lactoza (protein áp chế LacI thay đổi hình thể khi tiếp xúc với lactoza, nhờ đó phòng ngừa protein áp chế LacI khỏi liên kết vùng chỉ huy), vùng chỉ huy gen khởi đầu tryptophan (khi được tạo phức hợp với tryptophan, protein áp chế TrpR có hình thể mà liên kết vùng chỉ huy; khi thiếu vắng tryptophan, protein áp chế TrpR có hình thể mà không liên kết vùng chỉ huy), và vùng chỉ huy gen khởi đầu tac (ví dụ, xem tài liệu: deBoer et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25).

Theo một số phương án, ví dụ, đối với quá trình biểu hiện ở tế bào nấm men, gen khởi đầu thích hợp là gen khởi đầu cơ hữu như gen khởi đầu ADH1, gen khởi đầu PGK1, gen khởi đầu ENO, gen khởi đầu PYK1 và các gen tương tự; hoặc một gen khởi đầu có thể điều hòa được như gen khởi đầu GAL1, gen khởi đầu GAL10, gen khởi đầu ADH2, gen khởi đầu PHO5, gen khởi đầu CUP1, gen khởi đầu GAL7, gen khởi đầu MET25, gen khởi đầu MET3, gen khởi đầu CYC1, gen khởi đầu HIS3, gen khởi đầu ADH1, gen khởi đầu PGK, gen khởi đầu GAPDH, gen khởi đầu ADC1, gen khởi đầu TRP1, gen khởi đầu URA3, gen khởi đầu LEU2, gen khởi đầu ENO, gen khởi đầu TP1, và AOX1 (ví dụ, để sử dụng ở *Pichia*).

Đối với quá trình biểu hiện ở tế bào nhân thực, các gen khởi đầu thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các yếu tố tăng cường và gen khởi đầu globulin miễn dịch chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng; gen khởi đầu sớm tức thì của virus cự bào; gen khởi đầu kinaza thymidin của virus herpes simplex; các gen khởi đầu SV40 sớm và muộn; gen khởi đầu có mặt ở các đoạn lặp lại đầu tận cùng dài từ retrovirus; gen khởi đầu metallothionein-I của chuột; và các gen khởi đầu đặc hiệu với mô khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Việc chọn lựa vật truyền và gen khởi đầu thích hợp là nằm trong phạm vi trình độ kỹ năng thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đối tượng có thể có mặt ở vật truyền biểu hiện và/hoặc vật truyền tạo dòng vô tính. Sáng chế này đề xuất vật truyền tái tổ hợp, vật truyền này bao gồm axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đối tượng ở vật truyền tạo dòng vô tính. Sáng chế này còn đề xuất phân tử tái tổ hợp, phân tử này bao gồm axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đối tượng được liên kết theo kiểu có tính hoạt động vào (các) trình tự điều hòa thích hợp ở vật truyền biểu hiện để đảm bảo quá trình biểu hiện kháng thể đã được mã hóa. Trường

hợp kháng thể đối tượng bao gồm hai polypeptit tách biệt, thì axit nucleic bao gồm (các) trình tự nucleotit mã hóa hai polypeptit có thể được tạo dòng vô tính ở cùng một vật truyền hoặc các vật truyền tách biệt để tạo một hoặc nhiều vật truyền tái tổ hợp. Vật truyền tái tổ hợp có thể bao gồm gen đánh dấu có thể chọn lựa được, điểm khởi đầu sao chép, và các đặc tính khác mà đem lại quá trình sao chép và/hoặc duy trì vật truyền tái tổ hợp.

Những con số lớn về các vật truyền và gen khởi đầu thích hợp là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này; nhiều vật truyền và gen khởi đầu này là có bán trên thị trường dùng để tạo phân tử tái tổ hợp đối tượng. Các vật truyền sau đây được đề xuất bằng cách lấy ví dụ. Thuộc vi khuẩn: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., Mỹ); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, và pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Thụy Điển). Thuộc sinh vật nhân thực: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG và pSVL (Pharmacia).

Vật truyền biểu hiện thường có các vị trí giới hạn thuận tiện nằm gần trình tự gen khởi đầu để đem lại hoạt động chèn các trình tự axit nucleic mã hóa các protein khác nguồn gốc. Gen đánh dấu có thể chọn lựa được có tính hoạt động ở vật chủ biểu hiện có thể có mặt. Vật truyền biểu hiện thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vật truyền virus. Các ví dụ về vật truyền virus bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vật truyền virus dựa trên: virus bệnh đậu mùa; virus bệnh bại liệt; adenovirus (ví dụ, xem tài liệu: Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543-2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6:515-524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700-7704, 1995; Sakamoto et al., Hum Gene Ther 5:1088-1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 và WO 95/00655); virus gắn liền với adenovirus (ví dụ, xem tài liệu: Ali et al., Hum Gene Ther 9:81-86, 1998; Flannery et al., PNAS 94:6916-6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857-2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4:683-690, 1997; Rolling et al., Hum Gene Ther 10:641-648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5:591-594, 1996; Srivastava trong WO 93/09239, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154-165; và Flotte et al., PNAS (1993) 90:10613-10617); SV40; virus herpes simplex; vật truyền retrovirus (ví dụ, Virus Gây Bệnh Bạch cầu Chuột, virus hoại tử lá lách, và các vật truyền được tạo ra từ các retrovirus như Virus gây Ung thư Mô Trung bì Rous, Virus gây Ung thư Mô Trung bì Harvey, virus

gây bệnh tăng sinh mô tạo bạch cầu gia cầm, virus gây tình trạng suy giảm miễn dịch ở người (ví dụ, xem tài liệu: Miyoshi et al., PNAS 94:10319-23, 1997; Takahashi et al., J Virol 73:7812-7816, 1999), virus gây ung thư mô trung bì tăng sinh tủy, và virus gây khối u vú); và các virus tương tự.

Như đã nêu trên đây, axit nucleic đối tượng bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng Bb theo sáng chế này. Theo một số phương án, axit nucleic đối tượng bao gồm trình tự nucleotit mã hóa CDR chuỗi nặng và CDR chuỗi nhẹ của kháng thể đối tượng, trong đó các trình tự mã hóa CDR là xen lẫn với các trình tự nucleotit mã hóa FR. Theo một số phương án, các trình tự nucleotit mã hóa FR là các trình tự nucleotit mã hóa FR của người.

Tế bào chủ

Sáng chế này đề xuất các tế bào chủ được cải biến gen được phân lập (ví dụ, các tế bào *in vitro*) mà được cải biến gen bằng axit nucleic đối tượng. Sáng chế này đề xuất các tế bào chủ được cải biến gen được phân lập (ví dụ, các tế bào *in vitro*) mà được cải biến gen bằng (các) vật truyền biểu hiện tái tổ hợp đối tượng (bao gồm axit nucleic bao gồm (các) trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng Bb theo sáng chế này). Theo một số phương án, tế bào chủ được cải biến gen được phân lập đối tượng có thể sản xuất kháng thể đối tượng. Tế bào như vậy được gọi là tế bào tái tổ hợp hoặc tế bào được cải biến gen hoặc tế bào chủ được cải biến gen. Tế bào tái tổ hợp bao gồm (các) axit nucleic tái tổ hợp (ví dụ, vật truyền biểu hiện tái tổ hợp) bao gồm (các) trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đối tượng.

Các tế bào chủ thích hợp bao gồm các tế bào nhân thực chủ, như tế bào động vật có vú, tế bào chủ côn trùng, tế bào nấm men; và các tế bào nhân sơ, như tế bào vi khuẩn. Có thể thực hiện việc đưa axit nucleic đối tượng vào tế bào chủ, ví dụ, bằng phương pháp kết tủa canxi phosphat, phương pháp chuyển nhiễm do DEAE dextran làm trung gian, phương pháp chuyển nhiễm do liposom làm trung gian, biến nạp bằng xung điện, hoặc phương pháp đã biết khác.

Các tế bào động vật có vú thích hợp bao gồm các tế bào sơ cấp và các dòng tế bào bất tử. Các dòng tế bào động vật có vú thích hợp bao gồm các dòng tế bào của người, các dòng tế bào động vật linh trưởng không phải người, các dòng tế bào động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt, chuột cống), và các dòng tế bào tương tự. Các dòng tế bào động vật có vú thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tế bào HeLa (ví dụ, Bộ Sưu tập

Giống Chuẩn của Mỹ (American Type Culture Collection-ATCC) số CCL-2), các tế bào Buồng trứng Chuột Túi má Trung Quốc (CHO) (ví dụ, các ATCC số CRL9618, CCL61, CRL9096), tế bào 293 (ví dụ, ATCC số CRL-1573), các tế bào Vero, tế bào NIH 3T3 (ví dụ, ATCC số CRL-1658), tế bào Huh-7, các tế bào BHK (ví dụ, ATCC số CCL10), tế bào PC12 (ATCC số CRL1721), các tế bào COS, tế bào COS-7 (ATCC số CRL1651), các tế bào RAT1, các tế bào L của chuột (ATCC số CCLI.3), các tế bào thận phôi thai của người (HEK) (ATCC số CRL1573), tế bào HLHepG2, và các tế bào tương tự. Trong một số trường hợp, các tế bào này là tế bào HEK. Trong một số trường hợp, các tế bào này là các tế bào CHO, ví dụ, tế bào CHO-K1 (ATCC số CCL-61), tế bào CHO-M, tế bào CHO-DG44 (ATCC số PTA-3356), và các tế bào tương tự. Theo một số phương án, tế bào chủ này là tế bào COS. Theo một số phương án, tế bào chủ này là tế bào 293. Theo một số phương án, tế bào chủ này là tế bào CHO.

Các tế bào nấm men thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia metanolica*, *Pichia* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces* sp., *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium* sp., *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Neurospora crassa*, *Chlamydomonas reinhardtii*, và các loài tương tự. Theo một số phương án, tế bào chủ này là *Saccharomyces*. Theo một số phương án, tế bào chủ này là *Pichia*.

Các tế bào nhân sơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chủng bất kỳ trong số một loạt chủng phòng thí nghiệm của *Escherichia coli*, *Bacillus* (ví dụ, *B. subtilis*), *Lactobacillus* sp., và các chủng tương tự. Ví dụ, xem tài liệu: Carrier et al. (1992) *J. Immunol.* 148:1176-1181; Patent Mỹ số 6,447,784; và Sizemore et al. (1995) *Science* 270:299-302. Thông thường là, chủng phòng thí nghiệm là chủng mà không có tính gây bệnh. Theo một số phương án, tế bào chủ này là *Escherichia coli*. Theo một số phương án, tế bào chủ này là *Bacillus subtilis*.

Các dược phẩm

Sáng chế này đề xuất các chế phẩm, bao gồm cả các dược phẩm chứa kháng thể kháng Bb theo sáng chế này. Nhìn chung, dược phẩm, còn được gọi trong bản mô tả này

là dạng chế phẩm, bao gồm một lượng hữu hiệu của kháng thể đối tượng. “Lượng hữu hiệu” có nghĩa là liều lượng đủ để tạo ra kết quả mong muốn, ví dụ, sự giảm về triệu chứng có hại gắn liền với bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian, sự thuyên giảm triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian, làm chậm sự tiến triển của bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian, v.v. Nhìn chung, kết quả mong muốn ít nhất là sự giảm về triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian, khi so với đối chứng. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được tạo dạng chế phẩm và/hoặc được cải biến để giúp kháng thể băng qua được hàng rào máu-não. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được phân phối theo một phương thức mà tránh được hàng rào máu-não. Theo một số phương án, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được tạo dạng chế phẩm với một chất mà tạo thuận lợi cho quá trình băng qua hàng rào máu-não. Theo một số phương án, kháng thể đối tượng được dung hợp, một cách trực tiếp hoặc thông qua gốc liên kết, với hợp chất mà thúc đẩy quá trình băng qua hàng rào máu-não.

Dạng chế phẩm

Trong phương pháp theo sáng chế này, có thể cho vật chủ dùng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bằng cách sử dụng các phương tiện thuận tiện bất kỳ có khả năng đem lại tác dụng trị liệu hoặc tác dụng chẩn đoán mong muốn. Vì vậy, kháng thể kháng Bb có thể được sáp nhập vào một loạt dạng chế phẩm dùng cho việc cho dùng trị liệu. Cụ thể hơn là, kháng thể đối tượng có thể được tạo dạng chế phẩm thành các dược phẩm bằng sự kết hợp với chất mang dược dụng, chất pha loãng dược dụng, hoặc các tá dược dược dụng thích hợp khác và có thể được tạo dạng chế phẩm thành các chế phẩm ở dạng rắn, bán rắn, lỏng hoặc dạng khí, như viên nén, viên nang, bột, hạt, thuốc mỡ, dung dịch, viên thuốc đạn, thuốc tiêm, chất xông hít và sol khí. Theo một số phương án, dược phẩm chứa kháng thể đối tượng và tá dược dược dụng.

Ở các dạng liều lượng dược phẩm, kháng thể đối tượng có thể được cho dùng dưới dạng muối dược dụng của chúng, hoặc chúng cũng có thể được sử dụng chỉ một mình hoặc ở dạng kết hợp thích hợp, cũng như ở dạng kết hợp, với các hợp chất có hoạt tính về mặt dược lý khác. Các phương pháp và tá dược sau đây thuần túy là làm ví dụ và ắt hẳn không làm giới hạn phạm vi sáng chế.

Đối với các chế phẩm dùng qua đường miệng, kháng thể đối tượng có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng kết hợp với các chất phụ gia thích hợp để tạo viên nén, bột, hạt hoặc viên nang, ví dụ, với các chất phụ gia thông thường, như lactoza, manitol, tinh

bột ngô hoặc tinh bột khoai tây; với các chất kết dính, như xenluloza tinh thể, các dẫn xuất xenluloza, acacia, tinh bột ngô hoặc gelatin; với các chất gây rã, như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây hoặc natri carboxymetylxenluloza; với các chất làm trơn, như talc hoặc magie stearat; và nếu mong muốn, với các chất pha loãng, chất đệm, chất làm ẩm, chất bảo quản và chất tạo hương vị.

Kháng thể đối tượng có thể được tạo dạng chế phẩm thành các chế phẩm dùng để tiêm bằng cách hòa tan, tạo huyền phù hoặc nhũ hóa kháng thể trong dung môi nước hoặc dung môi không nước, như dầu thực vật hoặc các dầu tương tự khác, propylen glycol, glyxerit axit béo tổng hợp, các este hữu cơ dùng để tiêm (ví dụ, etyl oleat), các este của các axit béo cao hoặc propylen glycol; và nếu mong muốn, với các chất phụ gia thông thường như chất làm tan, chất đẳng trương, chất tạo huyền phù, chất nhũ hóa, chất làm ổn định và chất bảo quản. Các chất dẫn ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch natri clorua, dextroza Ringer, dextroza và natri clorua, thuốc tiêm Ringer được lactat hóa, hoặc dầu không bay hơi. Các chất dẫn trong tĩnh mạch bao gồm các chất bổ sung dưỡng chất và chất dịch, các chất bổ sung chất điện phân (như những loại dựa trên dextroza Ringer), và các chất tương tự. Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế này có thể bao gồm các chất khác nữa như dopamin hoặc các thuốc tâm thần dược học, tùy thuộc vào cách sử dụng được dự định của dược phẩm này.

Các dược phẩm chứa kháng thể đối tượng được điều chế bằng cách trộn kháng thể đối tượng có mức độ tinh khiết mong muốn với các chất mang có thể chấp nhận được về mặt sinh lý tùy ý, tá dược, chất làm ổn định, chất hoạt động bề mặt, dung dịch đệm và/hoặc chất trương lực khác. Các chất mang, các tá dược khác và/hoặc chất làm ổn định có thể chấp nhận được là không độc hại đối với đối tượng tiếp nhận ở liều lượng và nồng độ được sử dụng, và bao gồm các dung dịch đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; các chất chống oxy hóa bao gồm cả axit ascorbic, glutathion, xystein, metionin và axit xitric; chất bảo quản (như etanol, rượu benzyl, phenol, m-cresol, p-clo-m-cresol, metyl hoặc propyl paraben, benzalkoni clorua, hoặc các dạng kết hợp của chúng); các axit amin như arginin, glyxin, ornitin, lysin, histidin, axit glutamic, axit aspartic, isoleuxin, leuxin, alanin, phenylalanin, tyrosin, tryptophan, metionin, serin, prolín và các dạng kết hợp của chúng; monosacarit, disacarit và các carbohydrat khác; các polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); các protein, như gelatin hoặc albumin huyết thanh; các chất tạo chelat như EDTA; các loại đường như trehaloza, sucroza,

lactoza, glucoza, mannoza, mantoza, galactoza, fructoza, sorboza, rafinoza, glucosamin, N-metylglucosamin, galactosamin, và axit neuraminic; và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion như Tween, Brij Pluronics, Triton-X, hoặc polyetylen glycol (PEG).

Dược phẩm có thể là dưới dạng chất lỏng, dạng được đông khô hoặc dạng chất lỏng được hoàn nguyên từ dạng được đông khô, trong đó chế phẩm được đông khô này là để hoàn nguyên với dung dịch vô trùng trước khi cho dùng. Quy trình tiêu chuẩn dùng để hoàn nguyên chế phẩm được đông khô là để bổ sung trở lại một thể tích nước tinh khiết (thông thường tương đương với thể tích bị loại bỏ trong suốt quá trình làm khô lạnh); tuy nhiên dung dịch bao gồm các chất kháng khuẩn có thể được sử dụng cho việc sản xuất các dược phẩm dùng cho phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa; xem thêm tài liệu: Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54.

Các nồng độ kháng thể làm ví dụ ở dược phẩm đối tượng có thể nằm trong khoảng từ khoảng 1mg/ml đến khoảng 200mg/ml hoặc từ khoảng 50mg/ml đến khoảng 200mg/ml, hoặc từ khoảng 150mg/ml đến khoảng 200mg/ml.

Dạng chế phẩm nước của kháng thể có thể được điều chế trong dung dịch được đệm pH, ví dụ, ở độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 4,0 đến khoảng 7,0, hoặc từ khoảng 5,0 đến khoảng 6,0, hoặc theo cách khác, khoảng 5,5. Các ví dụ về dung dịch đệm mà thích hợp cho độ pH trong phạm vi khoảng này bao gồm dung dịch đệm phosphat, dung dịch đệm histidin, dung dịch đệm xitrat, dung dịch đệm suxinat, dung dịch đệm axetat và các dung dịch đệm axit hữu cơ khác. Nồng độ dung dịch đệm có thể là từ khoảng 1 mM đến khoảng 100 mM, hoặc từ khoảng 5 mM đến khoảng 50 mM, ví dụ, tùy thuộc vào dung dịch đệm và trương lực mong muốn của dạng chế phẩm.

Chất trương lực có thể được lấy vào dạng chế phẩm kháng thể để điều biến trương lực của dạng chế phẩm. Các chất trương lực làm ví dụ bao gồm natri clorua, kali clorua, glycerin và hợp phần bất kỳ từ nhóm gồm các axit amin, các loại đường cũng như các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, dạng chế phẩm nước là đẳng trương, mặc dù dung dịch ưu trương hoặc dung dịch nhược trương có thể là thích hợp. Thuật ngữ “đẳng trương” biểu thị một dung dịch có cùng một trương lực với một số dung dịch khác mà nó được đem so sánh, như dung dịch muối sinh lý hoặc huyết thanh. Các chất trương lực có thể được sử dụng theo lượng là khoảng 5 mM đến khoảng 350 mM, ví dụ, theo lượng là 100 mM đến 350 mM.

Chất hoạt động bề mặt cũng có thể được bổ sung vào dạng chế phẩm kháng thể để

làm giảm mức kết tụ của kháng thể đã được tạo dạng chế phẩm và/hoặc giảm thiểu mức hình thành dạng hạt trong dạng chế phẩm và/hoặc làm giảm mức hấp phụ. Chất hoạt động bề mặt làm ví dụ bao gồm các este axit béo của polyoxyetylen sorbitan (Tween), các ete polyoxyetylen alkyl (Brij), các ete alkylphenylpolyoxyetylen (Triton-X), copolyme polyoxyetylen-polyoxypropylen (Poloxamer, Pluronic), và natri dodecyl sulfat (SDS). Các ví dụ về este axit béo-polyoxyetylen sorbitan thích hợp là polysorbat 20, (được bán dưới nhãn hiệu Tween 20™) và polysorbat 80 (được bán dưới nhãn hiệu Tween 80™). Các ví dụ về các copolyme polyetylen-polypropylen thích hợp là những loại được bán dưới các tên Pluronic® F68 hoặc Poloxamer 188™. Các ví dụ về các ete polyoxyetylen alkyl thích hợp là những loại được bán dưới nhãn hiệu Brij™. Các mức nồng độ làm ví dụ của chất hoạt động bề mặt có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,001% đến khoảng 1% trọng lượng/thể tích.

Chất bảo vệ đông khô cũng có thể được bổ sung để bảo vệ thành phần có hoạt tính không bền (ví dụ, protein) chống lại các điều kiện làm mất ổn định trong suốt quy trình làm khô lạnh. Ví dụ, các chất bảo vệ đông khô đã biết bao gồm các loại đường (bao gồm cả glucoza và sucroza); các polyol (bao gồm cả manitol, sorbitol và glyxerol); và các axit amin (bao gồm cả alanin, glyxin và axit glutamic). Các chất bảo vệ đông khô có thể được lấy vào theo một lượng là khoảng 10 mM đến 500 nM.

Theo một số phương án, dạng chế phẩm đối tượng bao gồm kháng thể đối tượng, và một hoặc nhiều chất trong số các chất được nhận diện trên đây (ví dụ, chất hoạt động bề mặt, dung dịch đệm, chất làm ổn định, chất tương lực) và về cơ bản không có một hoặc nhiều chất bảo quản, như etanol, rượu benzyl, phenol, m-cresol, p-clo-m-cresol, metyl hoặc propyl paraben, benzalkoni clorua, và các dạng kết hợp của chúng. Theo các phương án khác, chất bảo quản được lấy vào dạng chế phẩm, ví dụ, ở các mức nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 đến khoảng 2% (trọng lượng/thể tích).

Ví dụ, dạng chế phẩm đối tượng có thể là dạng chế phẩm lỏng hoặc dạng chế phẩm được đông khô thích hợp cho phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa, và có thể bao gồm: khoảng 1mg/ml đến khoảng 200mg/ml của kháng thể đối tượng; khoảng 0,001% đến khoảng 1% của ít nhất một chất hoạt động bề mặt; khoảng 1 mM đến khoảng 100 mM của dung dịch đệm; tùy ý khoảng 10 mM đến khoảng 500 mM của chất làm ổn định; và khoảng 5 mM đến khoảng 305 mM của chất tương lực; và có độ pH là khoảng 4,0 đến khoảng 7,0.

Lấy một ví dụ khác, dạng chế phẩm ngoài đường tiêu hóa đối tượng là dạng chế phẩm lỏng hoặc dạng chế phẩm được đông khô bao gồm: khoảng 1mg/ml đến khoảng 200mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,04% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và sucroza 250 mM; và có độ pH là 5,5.

Lấy một ví dụ khác, dạng chế phẩm ngoài đường tiêu hóa đối tượng bao gồm dạng chế phẩm được đông khô bao gồm: 1) 15mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,04% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và sucroza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 2) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,04% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và sucroza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 3) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và sucroza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 4) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,04% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và trehaloza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 5) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và trehaloza 250 mM; và có độ pH là 5,5.

Lấy một ví dụ khác, dạng chế phẩm ngoài đường tiêu hóa đối tượng là dạng chế phẩm lỏng bao gồm: 1) 7,5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 120 mM; và 250 sucroza 125 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 2) 37,5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 10 mM; và sucroza 125 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 3) 37,5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,01% trọng lượng/thể tích; L-histidin 10 mM; và sucroza 125 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 4) 37,5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 10 mM; trehaloza 125 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 5) 37,5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,01% trọng lượng/thể tích; L-histidin 10 mM; và trehaloza 125 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 6) 5mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và trehaloza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 7) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và manitol 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 8) 75mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và natri clorua 140 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 9) 150mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và trehaloza 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 10) 150mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và manitol 250 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 11) 150mg/ml của

kháng thể đối tượng; Tween 20 0,02% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và natri clorua 140 mM; và có độ pH là 5,5; hoặc 12) 10mg/ml của kháng thể đối tượng; Tween 20 0,01% trọng lượng/thể tích; L-histidin 20 mM; và natri clorua 40 mM; và có độ pH là 5,5.

Kháng thể đối tượng có thể được sử dụng trong dạng chế phẩm sol khí sẽ được cho dùng thông qua phương pháp xông hít. Kháng thể đối tượng có thể được tạo dạng chế phẩm thành các khí đẩy có thể chấp nhận được được điều áp như diclodiometan, propan, nitơ và các chất tương tự. Các dạng chế phẩm sol khí như các dạng chế phẩm thuốc xịt mũi bao gồm dung dịch nước được tinh chế hoặc dung dịch khác của chất có hoạt tính với chất bảo quản và các chất đẳng trương. Các dạng chế phẩm như vậy được điều chỉnh đến độ pH và trạng thái đẳng trương tương hợp với các màng nhầy mũi.

Ngoài ra, kháng thể đối tượng có thể được tạo thành viên thuốc đạn bằng cách trộn với một loạt bazơ như các bazơ nhũ hóa hoặc các bazơ tan được trong nước. Có thể cho dùng kháng thể đối tượng qua đường trực tràng thông qua viên thuốc đạn. Viên thuốc đạn có thể chứa các chất dẫn như bơ cacao, các carbowax và polyetylen glycol, các chất này nóng chảy ở nhiệt độ cơ thể, nhưng được rắn hóa ở nhiệt độ trong phòng.

Các dạng liều lượng đơn vị dùng cho phương thức dùng qua đường miệng hoặc trực tràng như xi rô, cồn ngọt, và huyền phù có thể được bố trí trong đó mỗi liều lượng đơn vị, ví dụ, thìa cà phê đầy, thìa canh đầy, viên nén hoặc viên thuốc đạn, chứa một lượng được xác định trước của chế phẩm. Theo cách tương tự, các dạng liều lượng đơn vị dùng để tiêm hoặc dùng cho phương thức cho dùng trong tĩnh mạch có thể bao gồm kháng thể đối tượng trong chế phẩm ở dạng dung dịch trong nước vô trùng, dung dịch muối đẳng trương hoặc một chất mang được dụng khác.

Thuật ngữ “dạng liều lượng đơn vị”, như được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ các đơn vị riêng rẽ về mặt vật lý thích hợp ở dạng liều lượng đơn nhất dùng cho đối tượng là người và động vật, mỗi đơn vị chứa một số lượng được xác định trước của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, được tính toán theo lượng đủ để tạo ra tác dụng mong muốn gắn liền với chất pha loãng, chất mang hoặc chất dẫn được dụng. Các thông số kỹ thuật về kháng thể đối tượng có thể phụ thuộc vào kháng thể cụ thể được sử dụng và tác dụng cần đạt được, và được lực học gắn liền với mỗi kháng thể ở vật chủ.

Các phương thức cho dùng khác cũng sẽ tìm được cách dùng bằng phương pháp theo sáng chế này. Ví dụ, kháng thể đối tượng có thể được tạo dạng chế phẩm thành viên

thuốc đạn và, trong một số trường hợp, các chế phẩm sol khí và trong mũi. Đối với viên thuốc đạn, chế phẩm chất dẫn sẽ bao gồm các chất kết dính và chất mang truyền thống như, polyalkylen glycol, hoặc triglyxerit. Các viên thuốc đạn như vậy có thể được tạo ra từ các hỗn hợp chứa thành phần có hoạt tính nằm trong khoảng là khoảng 0,5% đến khoảng 10% (trọng lượng/trọng lượng), ví dụ, khoảng 1% đến khoảng 2%.

Các dạng chế phẩm dùng trong mũi thường sẽ chứa các chất dẫn mà không gây ra sự kích ứng cho niêm mạc mũi và cũng không làm xáo trộn một cách đáng kể chức năng thể mi. Có thể sử dụng các chất pha loãng như nước, dung dịch muối nước hoặc các chất đã biết khác. Các dạng chế phẩm dùng qua đường mũi cũng có thể chứa chất bảo quản như, nhưng không chỉ giới hạn ở, clobutanol và benzalkoni clorua. Chất hoạt động bề mặt có thể có mặt để tăng cường khả năng hấp thụ kháng thể đối tượng bởi niêm mạc mũi.

Có thể cho dùng kháng thể đối tượng ở dạng chế phẩm dùng để tiêm. Thông thường là, các chế phẩm dùng để tiêm được điều chế ở dạng dung dịch lỏng hoặc huyền phù; các dạng rắn thích hợp cho dung dịch, hoặc huyền phù trong các chất dẫn lỏng trước khi tiêm cũng có thể được điều chế. Chế phẩm này cũng có thể được nhũ hóa hoặc kháng thể được đóng nang trong các chất dẫn liposom.

Các chất dẫn tá được thích hợp là, ví dụ, nước, dung dịch muối, dextroza, glyxerol, etanol, hoặc các chất tương tự, và các dạng kết hợp của chúng. Ngoài ra, nếu mong muốn, chất dẫn có thể chứa các lượng nhỏ của các chất phụ trợ như chất làm ướt hoặc chất nhũ hóa hoặc chất đệm độ pH. Các phương pháp thực tế của quá trình điều chế các dạng liều lượng như vậy là đã biết, hoặc sẽ sáng tỏ, đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17th edition, 1985. Trong trường hợp bất kỳ, chế phẩm hoặc dạng chế phẩm cần được cho dùng sẽ chứa số lượng của kháng thể đối tượng thích hợp để đạt được tình trạng mong muốn ở đối tượng đang được điều trị.

Các tá được dùng, như chất dẫn, chất phụ trợ, chất mang hoặc chất pha loãng, là dễ tìm đối với công chúng. Hơn nữa, các chất phụ trợ được dùng, như chất điều chỉnh độ pH và chất đệm, chất điều chỉnh trương lực, chất làm ổn định, chất thẩm ướt và các chất tương tự, là dễ tìm đối với công chúng.

Trong một số trường hợp, kháng thể đối tượng được tạo dạng chế phẩm thành dạng chế phẩm giải phóng có kiểm soát. Các chế phẩm giải phóng chậm có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các ví dụ

thích hợp về chế phẩm giải phóng chậm bao gồm cơ chất bán thấm của các polyme kỵ nước dạng rắn chứa kháng thể mà trong đó các cơ chất này là dưới dạng vật dụng được tạo hình, ví dụ, màng mỏng hoặc vi nang. Các ví dụ về các cơ chất giải phóng chậm bao gồm các polyeste, các copolyme của L-axit glutamic và etyl-L-glutamat, ety len-vinyl axetat không phân hủy được, hydrogel, polylactit, các copolyme axit lactic-axit glycolic có thể phân hủy được và axit poly-D-(-)-3-hydroxybutyric. Hiện tượng mất hoạt tính sinh học có thể có và các thay đổi có thể có về tính sinh miễn dịch của các kháng thể được chứa đựng trong các chế phẩm giải phóng chậm có thể được phòng ngừa bằng cách sử dụng các chất phụ gia thích hợp, bằng cách kiểm soát hàm lượng hơi ẩm và bằng cách phát triển các chế phẩm cơ chất polyme cụ thể.

Giải phóng có kiểm soát trong phạm vi của sáng chế này có thể được đưa ra để chỉ dạng liều lượng bất kỳ trong số một số dạng liều lượng giải phóng được kéo dài. Các thuật ngữ sau đây về cơ bản có thể được xem là tương đương với giải phóng có kiểm soát, vì các mục đích của sáng chế này: giải phóng liên tục, giải phóng có kiểm soát, giải phóng có trì hoãn, kho chứa, giải phóng được kéo dài, giải phóng dần dần, giải phóng ngay lập tức, giải phóng dài hạn, giải phóng được lập trình, giải phóng được kéo dài thời gian, giải phóng theo tỷ lệ, giải phóng lâu dài, dạng kho tích trữ, trì hoãn, giải phóng chậm, giải phóng cách quãng, giải phóng chậm, lớp phủ theo thời gian, giải phóng được định giờ, tác dụng được trì hoãn, tác dụng được kéo dài, tác dụng theo thời gian từng lớp, tác dụng kéo dài, tác dụng được kéo dài thời gian, tác dụng được lặp lại, tác dụng làm chậm, tác dụng chậm, và các phương thuốc tác dụng chậm. Các phần bản luận thêm về các thuật ngữ này có thể được tìm thấy trong tài liệu: Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.).

Các công nghệ giải phóng có kiểm soát khác nhau bao hàm một loạt rất nhiều dạng liều lượng thuốc. Các công nghệ giải phóng có kiểm soát bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở hệ thống vật lý và hệ thống hóa học.

Hệ thống vật lý bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hệ thống bể chứa có các màng kiểm soát tốc độ, như hệ thống đóng nang thành phần kích cỡ nhỏ, hệ thống đóng nang thành phần kích cỡ lớn, và các hệ thống màng; các hệ thống bể chứa không có các màng kiểm soát tốc độ, như các sợi rỗng, xenluloza triaxetat siêu xốp cỡ micro, và các chất nền polyme xốp và bột; các hệ thống không lồi, bao gồm cả những hệ thống được hòa tan về mặt vật lý trong các cơ chất không xốp, dạng polyme, hoặc polyme đàn hồi (ví

dụ, không có tính bào mòn, có tính bào mòn, sự xâm thực của tác nhân môi trường, và có thể phân hủy được), và các chất liệu được phân tán về mặt vật lý trong các cơ chất không xốp, dạng polyme, hoặc polyme đàn hồi (ví dụ, không có tính bào mòn, có tính bào mòn, sự xâm thực của tác nhân môi trường, và có thể phân hủy được); các cấu trúc theo lớp mỏng, bao gồm cả các lớp bề chứa về phương diện hóa học tương tự hoặc khác biệt với các lớp kiểm soát ngoài; và các phương pháp vật lý khác, như bơm thẩm thấu, hoặc phương pháp hấp phụ lên trên nhựa trao đổi ion.

Hệ thống hóa học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp ăn mòn hóa học các cơ chất polyme (ví dụ, ăn mòn không thuần nhất, hoặc thuần nhất), hoặc phương pháp ăn mòn sinh học cơ chất polyme (ví dụ, không thuần nhất, hoặc thuần nhất). Các phần bàn luận phụ thêm về các chủng loại hệ thống dùng cho phương pháp giải phóng có kiểm soát có thể được tìm thấy trong tài liệu: Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.).

Có một số dạng chế phẩm thuốc giải phóng có kiểm soát mà được phát triển cho phương thức dùng qua đường miệng. Các dạng này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hệ thống phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng áp suất thẩm thấu; các hệ thống phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng áp suất thủy động; các hệ thống phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng sự thấm màng, hệ thống này bao gồm các thiết bị phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng sự thấm màng xốp cỡ micro; các thiết bị phân phối dạ dày-ruột giải phóng có kiểm soát được hướng đích đến ruột kháng lại dịch vị; các hệ thống phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng quá trình khuếch tán gel; và các hệ thống phân phối dạ dày-ruột được kiểm soát bằng quá trình trao đổi ion, hệ thống này bao gồm thuốc dạng cation và thuốc dạng anion. Thông tin phụ thêm liên quan đến các hệ thống phân phối thuốc giải phóng có kiểm soát có thể được tìm thấy trong tài liệu: Yie W. Chien, Novel Drug Delivery Systems, 1992 (Marcel Dekker, Inc.).

Các mức liều lượng

Liều lượng thích hợp có thể được xác định bởi bác sĩ điều trị hoặc nhân viên y tế đủ tư cách trình độ khác, dựa trên các yếu tố lâm sàng khác nhau. Như là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật y tế, liều lượng dùng cho một bệnh nhân bất kỳ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm cả kích cỡ của bệnh nhân, diện tích bề mặt cơ thể, độ tuổi, hợp chất cụ thể sẽ được cho dùng, giới tính của bệnh nhân, thời gian, và đường dùng, sức khỏe tổng quát, và các loại thuốc khác đang được cho dùng một cách đồng thời. Có thể cho dùng

kháng thể kháng Bb đối tượng theo lượng từ 1 ng/kg thể trọng đến 20mg/kg thể trọng cho mỗi liều lượng, ví dụ, từ 0,1mg/kg thể trọng đến 10mg/kg thể trọng, ví dụ, từ 0,5mg/kg thể trọng đến 5mg/kg thể trọng; tuy nhiên, các mức liều lượng dưới hoặc trên khoảng làm ví dụ này được dự liệu, có xem xét đặc biệt đến các yếu tố được đề cập trên đây. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng là từ 20mg/kg thể trọng cho mỗi liều lượng đến 100mg/kg; ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng là từ 20mg/kg đến 25mg/kg, từ 25mg/kg đến 30mg/kg, từ 30mg/kg đến 35mg/kg, từ 35mg/kg đến 40mg/kg, từ 40mg/kg đến 45mg/kg, từ 45mg/kg đến 50mg/kg, từ 50mg/kg đến 55mg/kg, từ 55mg/kg đến 60mg/kg, từ 60mg/kg đến 65mg/kg, từ 65mg/kg đến 70mg/kg, từ 70mg/kg đến 75mg/kg, từ 75mg/kg đến 80mg/kg, từ 80mg/kg đến 85mg/kg, từ 85mg/kg đến 90mg/kg, từ 90mg/kg đến 95mg/kg, hoặc từ 95mg/kg đến 100mg/kg thể trọng cho mỗi liều lượng. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng là từ 20mg/kg đến 40mg/kg thể trọng cho mỗi liều lượng. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng là từ 40mg/kg đến 60mg/kg thể trọng cho mỗi liều lượng. Nếu chế độ là sự tiêm truyền liên tục, thì chế độ này cũng có thể là nằm trong khoảng từ 1 µg đến 10 mg cho mỗi kilogram thể trọng cho mỗi phút. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng mà độc lập với trọng lượng. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này được cho dùng theo lượng là từ 50 mg đến 500 mg cho mỗi liều lượng, hoặc cho mỗi tổng liều lượng hằng ngày; ví dụ, từ 50 mg đến 75mg, từ 75 mg đến 100mg, từ 100 mg đến 150mg, từ 150 mg đến 200mg, từ 200 mg đến 250mg, từ 250 mg đến 300mg, từ 300 mg đến 400mg, hoặc từ 400 mg đến 500mg, cho mỗi liều lượng, hoặc cho mỗi tổng liều lượng hằng ngày.

Trong một số trường hợp, liều lượng của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là nằm trong khoảng từ 0,001 µg đến 1000 µg; tuy nhiên, các mức liều lượng dưới hoặc trên khoảng làm ví dụ này được dự liệu, có xem xét đặc biệt đến các yếu tố được đề cập trên đây. Trong một số trường hợp, liều lượng này có thể nằm trong khoảng, ví dụ, từ khoảng 0,0001 đến 100mg/kg, hoặc từ khoảng 0,01 đến 5mg/kg (ví dụ, 0,02mg/kg, 0,25mg/kg, 0,5mg/kg, 0,75mg/kg, 1mg/kg, 2mg/kg, v.v.) thể trọng. Ví dụ, các mức liều lượng có thể là 1mg/kg thể trọng hoặc 10mg/kg thể trọng hoặc trong khoảng từ 1-10mg/kg, hoặc ít nhất 1mg/kg. Các mức liều lượng ở giữa trong các khoảng trên đây cũng được dự định là

trong phạm vi của sáng chế.

Có thể cho các cá thể dùng mức liều lượng như vậy hằng ngày, cách ngày, hằng tuần hoặc theo lịch trình bất kỳ khác được xác định bằng phép phân tích thực nghiệm. Phương pháp điều trị làm ví dụ bao gồm phương pháp cho dùng theo nhiều liều lượng trong một khoảng thời gian được kéo dài, ví dụ, ít nhất sáu tháng. Các chế độ điều trị làm ví dụ phụ thêm bao gồm phương pháp cho dùng hai tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần hoặc cứ 3 đến 6 tháng một lần. Các lịch trình liều lượng làm ví dụ bao gồm 1-10mg/kg hoặc 15mg/kg vào các ngày liên tiếp, 30mg/kg vào các ngày xen kẽ hoặc 60mg/kg hằng tuần. Theo một số phương pháp, hai kháng thể đơn dòng hoặc nhiều hơn nữa có các tính đặc hiệu liên kết khác nhau được cho dùng một cách đồng thời, trong trường hợp này, liều lượng của mỗi kháng thể được cho dùng rơi vào các khoảng được chỉ định. Tiến độ có thể được theo dõi bằng phương pháp đánh giá định kỳ.

Chuyên gia có trình độ trung bình sẽ dễ dàng nhìn nhận rằng các mức liều lượng và các lịch trình cho dùng có thể thay đổi ở dạng hàm số của kháng thể cụ thể, mức độ trầm trọng của các triệu chứng và tính dễ bị ảnh hưởng của đối tượng đối với các tác dụng phụ. Các mức liều lượng và các lịch trình cho dùng được ưu tiên của một hợp chất đã cho là có thể xác định được một cách dễ dàng bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này bằng một loạt phương tiện.

Các đường dùng

Kháng thể đối tượng cho cá thể dùng bằng cách sử dụng phương pháp và đường dùng sẵn có bất kỳ thích hợp cho phương pháp phân phối thuốc, bao gồm cả các phương pháp *in vivo* và *ex vivo*, cũng như đường dùng toàn thân và đường dùng cục bộ.

Các đường dùng được dụng và thông thường bao gồm các đường dùng trong mũi, trong cơ, trong khí quản, trong nước của cột thần kinh, trong sọ, dưới da, trong da, khu trú bên ngoài, trong tĩnh mạch, trong màng bụng, trong động mạch (ví dụ, thông qua động mạch cảnh), phân phối qua cột sống hoặc não, qua đường trực tràng, qua đường mũi, qua đường miệng, và qua đường ruột và ngoài đường tiêu hóa khác. Các đường dùng có thể được kết hợp, nếu mong muốn, hoặc được điều chỉnh, tùy thuộc vào kháng thể và/hoặc tác dụng mong muốn. Có thể cho dùng chế phẩm kháng thể đối tượng theo một liều lượng đơn lẻ hoặc theo nhiều liều lượng. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng bằng đường miệng. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng thông qua đường xông hít. Trong một số

trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu trong mũi. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu cục bộ. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu trong sọ. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu trong khoang dịch não tủy. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu dưới da. Trong một số trường hợp, chế phẩm kháng thể đối tượng được cho dùng theo kiểu trong cơ.

Có thể cho vật chủ dùng kháng thể theo sáng chế này bằng cách sử dụng các đường dùng và phương pháp thông thường sẵn có bất kỳ thích hợp cho việc phân phối thuốc thông thường, bao gồm cả các đường dùng toàn thân hoặc cục bộ. Nhìn chung, các đường dùng được dự liệu bởi sáng chế bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, qua đường ruột, ngoài đường tiêu hóa, hoặc đường xông hít.

Các đường dùng ngoài đường tiêu hóa không phải là đường dùng xông hít bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, khu trú bên ngoài, qua da, dưới da, trong cơ, trong hốc mắt, trong nang, trong cột sống, trong xương ức, trong nước của cột thần kinh, và trong tĩnh mạch, tức là, đường dùng bất kỳ không phải là thông qua đường tiêu hóa. Phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được thực hiện để đem đến quá trình phân phối toàn thân hoặc cục bộ kháng thể đối tượng. Trường hợp mong muốn quá trình phân phối toàn thân, phương thức cho dùng thường liên quan đến quá trình cho dùng xâm lấn hoặc khu trú bên ngoài hoặc qua niêm mạc được hấp thụ theo kiểu toàn thân các chế phẩm được.

Cũng có thể phân phối kháng thể đối tượng cho đối tượng bằng phương thức dùng qua đường ruột. Các đường dùng qua đường ruột bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, phương pháp phân phối qua đường miệng và qua đường trực tràng (ví dụ, bằng cách sử dụng viên thuốc đạn).

Nói là điều trị có nghĩa là ít nhất một sự thuyên giảm các triệu chứng gắn liền với tình trạng bệnh lý gây hại cho vật chủ, trong đó sự thuyên giảm này được sử dụng theo nghĩa rộng để chỉ ít nhất một sự giảm về độ lớn của một thông số, ví dụ, triệu chứng, gắn liền với tình trạng bệnh lý đang được điều trị, như bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian. Như vậy, việc điều trị còn bao gồm các tình huống trong đó tình trạng bệnh lý, hoặc ít nhất là các triệu chứng gắn liền với nó, được ức chế một cách hoàn toàn, ví dụ, được

phòng ngừa khỏi xảy ra, hoặc được ngừng lại, ví dụ, được chấm dứt, sao cho vật chủ không còn hứng chịu tình trạng bệnh lý nữa, hoặc ít nhất là các triệu chứng mà xác định đặc tính tình trạng bệnh lý.

Trong một số trường hợp, kháng thể đối tượng được cho dùng bằng phương pháp tiêm và/hoặc phương pháp phân phối, ví dụ, đến một vị trí trong động mạch não hoặc một cách trực tiếp vào mô não. Cũng có thể cho dùng kháng thể đối tượng một cách trực tiếp đến một vị trí đích, ví dụ, bằng phương pháp phân phối đạn đạo sinh học đến vị trí đích.

Một loạt vật chủ (trong đó, trong bản mô tả này, thuật ngữ “vật chủ” được sử dụng thay thế cho các thuật ngữ “đối tượng”, “cá thể”, và “bệnh nhân”) là có thể điều trị được theo các phương pháp đối tượng. Nhìn chung, các vật chủ như vậy là “động vật có vú” hoặc “thuộc động vật có vú”, trong đó các thuật ngữ này là được sử dụng một cách rộng rãi để mô tả các sinh vật mà trong phạm vi lớp động vật có vú, bao gồm cả bộ sinh vật ăn thịt (ví dụ, mèo), sinh vật ăn cỏ (ví dụ, gia súc, ngựa, và cừu), sinh vật ăn tạp (ví dụ, chó, dê, và lợn), động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt, chuột lang nhà, và chuột cống), và động vật linh trưởng (ví dụ, người, tinh tinh, và khỉ). Trong một số trường hợp, vật chủ này là cá thể mà có hệ thống bổ thể, như động vật có vú, cá, hoặc động vật không xương sống. Trong một số trường hợp, vật chủ này là động vật có vú, cá, hoặc động vật không xương sống động vật đồng hành, động vật trong ngành nông nghiệp, động vật cung cấp sức lao động, động vật trong vườn thú, hoặc động vật trong phòng thí nghiệm chứa hệ thống bổ thể. Trong một số trường hợp, vật chủ này là người.

Sáng chế này đề xuất vật chứa thích hợp để chứa chế phẩm bao gồm kháng thể kháng Bb đối tượng cho việc cho cá thể dùng. Ví dụ, kháng thể đối tượng có thể được bố trí trong vật chứa thích hợp để chứa được phẩm. Vật chứa có thể là, ví dụ, chai (ví dụ, với thiết bị đóng, như nắp), gói dạng vỉ (ví dụ, dạng này có thể đem lại sự bao lấy một hoặc nhiều liều lượng cho mỗi vỉ), lọ, dạng đóng gói linh động (ví dụ, túi nhựa hoặc túi Mylar được bịt kín), ống thuốc tiêm (đối với các liều lượng đơn lẻ trong dung dịch), ống nhỏ giọt, bơm tiêm, màng mỏng, ống và các loại tương tự. Trong một số trường hợp, vật chứa, như vật chứa vô trùng, bao gồm được phẩm đối tượng. Trong một số trường hợp, vật chứa này là chai hoặc bơm tiêm. Trong một số trường hợp, vật chứa này là chai. Trong một số trường hợp, vật chứa này là bơm tiêm.

Kit có các liều lượng đơn vị của kháng thể đối tượng, ví dụ, theo liều lượng qua

đường miệng hoặc liều lượng dùng để tiêm, được đề xuất. Trong các kit như vậy, ngoài vật chứa chứa các liều lượng đơn vị ra, còn có tờ hướng dẫn thông tin sử dụng mô tả cách sử dụng và các lợi ích tham dự của kháng thể trong việc điều trị tình trạng bệnh lý đang được quan tâm. Các hợp chất và các liều lượng đơn vị được ưu tiên là những loại được mô tả trên đây trong bản mô tả này.

Các phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn do bổ thể làm trung gian

Sáng chế này đề xuất các phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn do bổ thể làm trung gian. Các phương pháp này nhìn chung liên quan đến việc cho cá thể cần đến phương pháp này dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này. Trong một số trường hợp, việc cho dùng kháng thể kháng Bb đối tượng điều biến hoạt tính của AP ở tế bào, mô, hoặc chất dịch của cá thể, và điều trị bệnh hoặc rối loạn do bổ thể làm trung gian.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế hoạt tính AP ở tế bào, mô, hoặc chất dịch của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức hoạt tính AP ở tế bào, mô, hoặc chất dịch khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb ức chế hoạt tính AP với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình tạo thành MAC ở tế bào, mô, hoặc chất dịch của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của MAC được tạo thành ở tế bào, mô, hoặc chất dịch khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian ở tế bào, mô, hoặc chất dịch của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít

nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với quá trình phân cắt C3 ở tế bào, mô, hoặc chất dịch khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian, và nhờ đó, làm giảm mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3. Ví dụ, trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian, nhờ đó làm giảm mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3 (ví dụ, C3a và/hoặc C3b), ở tế bào, mô, hoặc chất dịch của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức sản xuất sản phẩm phân cắt C3 ở tế bào, mô, hoặc chất dịch khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình phân giải tế bào do AP bổ thể làm trung gian ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức độ phân giải tế bào khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình phân giải do AP làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế chứng tán huyết do AP bổ thể làm trung gian ở tế bào, mô, hoặc chất dịch (ví dụ, chất dịch chứa RBC) của cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với mức độ của chứng tán huyết ở tế bào, mô, hoặc chất dịch khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể

kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế chứng tán huyết do AP làm trung gian với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế sự sản xuất độc tố phản vệ. Ví dụ, trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế sự sản xuất C3a và C5a là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc nhiều hơn 95%, so với lượng của C3a và C5a được sản xuất khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng của C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác trên tế bào hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng C3b trên tế bào hoặc mô khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên tế bào hoặc mô với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến $5 \times$

10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên các RBC ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng của C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác trên các RBC ở cá thể này khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b, C3d, hoặc sản phẩm tách C3 khác do AP làm trung gian trên các RBC với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng Bb theo sáng chế này là lượng mà hữu hiệu để ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các RBC ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc 100%, so với lượng của quá trình kết lắng C3b trên các RBC ở cá thể này khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb. Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này ức chế quá trình kết lắng C3b do AP làm trung gian trên các RBC với IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 10^{-9} M, ví dụ, IC_{50} là từ 10^{-7} M đến 5×10^{-7} M, từ 5×10^{-7} M đến 10^{-8} M, từ 10^{-8} M đến 5×10^{-8} M, hoặc từ 5×10^{-8} M đến 10^{-9} M.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, làm giảm lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, làm giảm lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong hệ tuần hoàn ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, làm giảm lượng của yếu tố Bb trong huyết tương ở cá thể này. Ví dụ, trong một số trường hợp, kháng thể kháng Bb theo sáng chế này, khi cho cá thể cần đến kháng thể này dùng theo một hoặc nhiều liều lượng, làm giảm lượng của yếu tố Bb trong huyết tương ở cá thể này là ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, hoặc ít nhất 95%, so với lượng của yếu tố Bb trong huyết tương ở cá thể này khi thiếu vắng việc cho dùng kháng thể kháng Bb, hoặc so với lượng của yếu tố Bb trong huyết tương ở cá thể này trước khi cho dùng kháng thể kháng Bb.

Trong một số trường hợp, phương pháp theo sáng chế này để điều trị cá thể có bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian bao gồm việc cho cá thể này dùng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này hoặc được phẩm bao gồm: a) kháng thể kháng Bb theo sáng chế này; và b) tá dược được dụng thích hợp cho việc cho cá thể như vậy dùng. Trong một số trường hợp, cá thể này là động vật có vú. Trong một số trường hợp, cá thể này là người. Việc cho dùng có thể là bằng đường dùng bất kỳ đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm cả những loại được bộc lộ trong bản mô tả này. Trong một số trường hợp, việc cho dùng là trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, việc cho dùng là trong nước của cột thần kinh. Trong một số trường hợp, việc cho dùng là trong cơ. Trong một số trường hợp, việc cho dùng là dưới da. Trong một số trường hợp, kháng thể được nhân tính hóa.

Các bệnh và rối loạn do bỏ thể làm trung gian mà thích hợp cho việc điều trị bằng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm các bệnh và rối loạn gắn liền với con đường bỏ thể thay thế khác.

Các bệnh và rối loạn do bỏ thể làm trung gian mà thích hợp cho việc điều trị bằng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm (PNH), Ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn (ITP), Ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP), Hội chứng Tan huyết-tăng Ure huyết (Hemolytic-Uremic Syndrome-HUS), bệnh đông máu rải rác trong mạch (Disseminated Intravascular Coagulation-DIC), Hội chứng kháng thể kháng phospholipit (Antiphospholipid Syndrome-APS), Ban Xuất huyết Sau Truyền máu, và Chứng giảm tiểu cầu dị miễn dịch đồng loài ở trẻ sơ sinh (Neonatal Allo-Immune Thrombocytopenia-NAITP), thiếu máu

cục bộ/tổn thương do tái tưới máu, và tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD).

Các bệnh và rối loạn do bỏ thể làm trung gian mà thích hợp cho việc điều trị bằng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hen suyễn, Hội chứng Tán huyết-Tăng Ure Huyết không điển hình (atypical Hemolytic Uremic Syndrome-aHUS), Hội chứng kháng thể kháng phospholipit thâm khốc (Hội chứng Asherson; hoặc CAPS), bệnh Cận lẳng Dày đặc ở Tiểu cầu thận (DDD), Viêm thận tiểu cầu thận do C3 (C3GN), tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), AMD khô, AMD ướt, bệnh Bong biểu bì Bọng nước do Mắc phải, Viêm Đa Khớp Dạng Thấp, viêm thận tiểu cầu thận tăng sinh màng loại II, và Huyết Sắc tố Niệu Kịch phát về Đêm (PNH).

Trong một số trường hợp, bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian được chọn lựa từ nhóm gồm tổn thương ngập lại-thiếu máu cục bộ, hội chứng tán huyết-tăng ure huyết không điển hình, ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối, huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm, bệnh cận lẳng dày đặc ở tiểu cầu thận, tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác, hư thai tự phát, viêm mạch miễn dịch ít, bệnh bong biểu bì bọng nước, hư thai tái phát, xơ cứng rải rác, tổn thương não do chấn thương, nhược cơ năng, bệnh agglutinin lạnh, viêm da-cơ, bệnh Degos, bệnh Graves, viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh đái tháo đường loại I, bệnh vẩy nến, pemphigut, chứng thiếu máu tán huyết tự miễn dịch, ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, hội chứng Goodpasture, bệnh dây thần kinh vận động đa ổ, viêm tủy-thị thần kinh, hội chứng kháng thể kháng phospholipit, và hội chứng kháng thể kháng phospholipit thâm khốc.

Các rối loạn gắn liền với AP và các rối loạn gắn liền với con đường cổ điển (classical pathway-CP) bao gồm, ví dụ, tổn thương ngập lại-thiếu máu cục bộ, hội chứng tán huyết-tăng ure huyết không điển hình, ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối, huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm, bệnh cận lẳng dày đặc ở tiểu cầu thận, tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác, hư thai tự phát, viêm mạch miễn dịch ít, bệnh bong biểu bì bọng nước, hư thai tái phát, xơ cứng rải rác, tổn thương não do chấn thương, nhược cơ năng, bệnh agglutinin lạnh, viêm da-cơ, bệnh Degos, bệnh Graves, viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh đái tháo đường loại I, bệnh vẩy nến, pemphigut, chứng thiếu máu tán huyết tự miễn dịch, ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, Hội chứng Goodpasture, bệnh dây thần kinh vận động đa ổ, viêm tủy-thị thần kinh, hội chứng kháng thể kháng phospholipit, và hội chứng kháng thể kháng phospholipit thâm khốc.

Các rối loạn gắn liền với bỏ thể còn bao gồm các rối loạn phổi gắn liền với bỏ thể

như, nhưng không chỉ giới hạn ở, hen suyễn, viêm phế quản, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), bệnh phổi kẽ, tình trạng thiếu hụt chất kháng trypsin α -1, bệnh tràn khí, bệnh giãn phế quản, viêm tiểu phế quản tắc nghẽn, viêm phế nang, bệnh u hạt phần thịt, chứng xơ hóa phổi, và các rối loạn mạch máu collagen.

Các bệnh và rối loạn do bỏ thể làm trung gian mà thích hợp cho việc điều trị bằng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác, bệnh Alzheimer, bệnh xơ cứng cột bên teo cơ, hiện tượng phản vệ, bệnh sa sút trí tuệ có hạt ưa bạc, viêm khớp (ví dụ, viêm đa khớp dạng thấp), hen suyễn, xơ vữa động mạch, hội chứng tán huyết-tăng ure huyết không điển hình, các bệnh tự miễn dịch, hội chứng Barraquer-Simons, bệnh Behçet, bệnh mạch máu dạng tinh bột kiểu Anh, pemphigut bong, bệnh Buerger, bệnh thận C1q, ung thư, hội chứng kháng phospholipit thâm khốc, bệnh mạch máu não do thoái hóa dạng tinh bột, bệnh agglutinin lạnh, thoái hóa vỏ não-đáy não, bệnh Creutzfeldt-Jakob, bệnh Crohn, viêm mạch do globulin lạnh trong máu, bệnh sa sút trí tuệ do chấn động não, bệnh sa sút trí tuệ có các thể Lewy (dementia with Lewy Bodies-DLB), bệnh vôi hóa đám rối sợi thần kinh phân tán, luput ban đỏ dạng đĩa, hội chứng Down, xơ cứng tiểu cầu thận khu trú từng vùng, rối loạn tư duy chính thức, bệnh sa sút trí tuệ do thoái hóa thùy trán-thái dương (FTD), bệnh sa sút trí tuệ do thoái hóa thùy trán-thái dương có hội chứng Parkinson liên quan đến nhiễm sắc thể 17, tình trạng thoái hóa thùy thái dương-thùy trán, bệnh Gerstmann-Straussler-Scheinker, hội chứng Guillain-Barré, bệnh Hallervorden-Spatz, hội chứng Tán huyết-tăng Ure huyết, chứng phù mạch di truyền, chứng giảm phosphatase kiềm, hội chứng viêm phổi vô căn, bệnh phức hợp miễn dịch, viêm cơ thể vùi, bệnh lây nhiễm (ví dụ, bệnh do vi khuẩn (ví dụ, *Neisseria meningitidis* hoặc *Streptococcus*) virus (ví dụ, virus gây tình trạng suy giảm miễn dịch ở người (HIV)), hoặc các tác nhân lây nhiễm khác gây ra), bệnh viêm, thiếu máu cục bộ / tổn thương do tái tưới máu, tình trạng sút kém nhận thức nhẹ, ban xuất huyết giảm tiểu cầu miễn dịch (ITP), tình trạng thiếu hụt đồng yếu tố molybden (MoCD) loại A, viêm thận tiểu cầu thận tăng sinh màng (MPGN) I, viêm thận tiểu cầu thận tăng sinh màng (MPGN) II (bệnh cận lắng dày đặc ở tiểu cầu thận), viêm thận màng, bệnh sa sút trí tuệ do có nhiều ổ nhồi máu não, luput (ví dụ, luput ban đỏ toàn thân (SLE)), viêm thận tiểu cầu thận, bệnh Kawasaki, bệnh dây thần kinh vận động đa ổ, xơ cứng rải rác, teo đa hệ thống, nhược cơ năng, nhồi máu cơ tim, loạn dưỡng trương lực cơ, viêm tủy-thị thần kinh, bệnh Niemann-Pick loại

C, bệnh tế bào thần kinh vận động có đám rối sợi thần kinh không phải kiểu đảo Guam, bệnh Parkinson, bệnh Parkinson có chứng sa sút trí tuệ, huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm, Pemphigut thể thông thường, bệnh Pick, hội chứng Parkinson sau viêm não, viêm đa cơ, bệnh mạch máu não do dạng tinh bột và protein prion, tăng sinh thần kinh đệm dưới vỏ não tiền triển, liệt trên nhân tiền triển, bệnh vẩy nến, nhiễm trùng máu, HuS do E coli sinh độc tố Shiga (STEC), chứng teo cơ cột sống, đột quy, viêm não toàn bộ xơ hóa bán cấp, bệnh sa sút trí tuệ chỉ do đám rối, sự đào thải miếng ghép, viêm mạch (ví dụ, viêm mạch gắn liền với ANCA), bệnh tạo u hạt Wegner, bệnh hồng cầu hình lưỡi liềm, chứng globulin lạnh trong máu, chứng globulin lạnh trong máu hỗn tạp, chứng globulin lạnh trong máu thiết yếu hỗn tạp, chứng globulin lạnh trong máu hỗn tạp loại II, chứng globulin lạnh trong máu hỗn tạp loại III, viêm thận, luput viêm thận, dạng pemphigut bong, *bệnh bong biểu bì bong nước do mắc phải*, phản ứng tán huyết tri hoãn sau truyền máu, và tình trạng chai lờn với tiểu cầu.

Liệu pháp kết hợp

Có thể cho cá thể cần đến dùng kháng thể kháng Bb theo sáng chế này chỉ một mình (ví dụ, ở dạng liệu pháp một loại thuốc); hoặc trong liệu pháp kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu phụ thêm.

“Ở dạng kết hợp với” như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ các cách sử dụng trong đó, ví dụ, hợp chất thứ nhất được cho dùng trong suốt toàn bộ tiến trình cho dùng hợp chất thứ hai; trong đó hợp chất thứ nhất được cho dùng trong khoảng thời gian mà chồng lấn với quá trình cho dùng hợp chất thứ hai, ví dụ, trong đó quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất bắt đầu trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ hai và quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất kết thúc trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ hai kết thúc; trong đó quá trình cho dùng hợp chất thứ hai bắt đầu trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất và quá trình cho dùng hợp chất thứ hai kết thúc trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất kết thúc; trong đó quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất bắt đầu trước khi cho dùng hợp chất thứ hai bắt đầu và quá trình cho dùng hợp chất thứ hai kết thúc trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất kết thúc; trong đó quá trình cho dùng hợp chất thứ hai bắt đầu trước khi cho dùng hợp chất thứ nhất bắt đầu và quá trình cho dùng hợp chất thứ nhất kết thúc trước khi quá trình cho dùng hợp chất thứ hai kết thúc. Như vậy, “ở dạng kết hợp” cũng có thể được dùng để chỉ chế độ liên quan đến việc cho dùng hai hợp chất hoặc nhiều hơn nữa. “Ở dạng kết hợp với” như được sử dụng

trong bản mô tả này còn được dùng để chỉ quá trình cho dùng hai hợp chất hoặc nhiều hơn nữa mà có thể được cho dùng trong cùng một dạng chế phẩm hoặc các dạng chế phẩm khác nhau, bằng cùng một đường dùng hoặc các đường dùng khác nhau, và trong cùng một loại dạng liều lượng hoặc các loại dạng liều lượng khác nhau.

Các cá thể cần được điều trị

Các cá thể thích hợp cho việc điều trị bằng kháng thể kháng Bb đối tượng bao gồm các cá thể mà đã được chẩn đoán là có bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian; các cá thể có nguy cơ lớn hơn so với quần thể chung đối với việc phát triển bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian (ví dụ, các cá thể có tổ bầm di truyền phát triển bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian); các cá thể có bệnh Parkinson có chứng sa sút trí tuệ (PDD); các cá thể có bệnh Alzheimer; các cá thể có bệnh huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm (PNH); các cá thể có bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn (ITP); các cá thể có bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP); các cá thể có Hội chứng Tán huyết-tăng Ure huyết (HUS); các cá thể có bệnh đông máu rải rác trong mạch (DIC); các cá thể có Hội chứng kháng thể kháng phospholipit (APS); các cá thể có bệnh ban xuất huyết sau truyền máu; các cá thể có chứng giảm tiểu cầu dị miễn dịch đồng loài ở trẻ sơ sinh (NAITP); các cá thể có chứng thiếu máu cục bộ/tổn thương do tái tưới máu; và các cá thể có tình trạng thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD). Cũng được lấy vào là các cá thể có một chứng bệnh bất kỳ trong số các bệnh hoặc rối loạn do bỏ thể làm trung gian được liệt kê trên đây trong bản mô tả này.

Trong một số trường hợp, cá thể này là người lớn. Trong một số trường hợp, người lớn là 20 tuổi hoặc cao tuổi hơn, 30 tuổi hoặc cao tuổi hơn; 40 tuổi hoặc cao tuổi hơn, 50 tuổi hoặc cao tuổi hơn, 60 tuổi hoặc cao tuổi hơn, 70 tuổi hoặc cao tuổi hơn, hoặc 80 tuổi hoặc cao tuổi hơn. Ví dụ, người lớn có thể là từ 20 tuổi đến 30 tuổi, từ 30 tuổi đến 40 tuổi, 40 tuổi đến 50 tuổi, từ 50 tuổi đến 60 tuổi, từ 60 tuổi đến 70 tuổi, hoặc cao tuổi hơn 70 tuổi. Trong một số trường hợp, cá thể này là trẻ em. Trong một số trường hợp, trẻ em này là nhỏ hơn 20 tuổi, nhỏ hơn 10 tuổi, hoặc nhỏ hơn 5 tuổi.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được đưa ra để cung cấp cho chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nội dung bộc lộ đầy đủ và sự mô tả về cách tạo ra và sử dụng sáng chế này, và không được dự định là giới hạn phạm vi của những gì các tác giả sáng chế xem là sáng chế của họ và chúng cũng không được dự định để thể hiện rằng các thủ

nghiệm dưới đây là tất cả các thử nghiệm hoặc các thử nghiệm duy nhất được thực hiện. Các nỗ lực đã được thực hiện để đảm bảo độ chính xác liên quan đến con số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v.) nhưng một số sai lệch và sai số thử nghiệm sẽ được tính đến. Trừ khi được thể hiện khác, các phần là các phần theo trọng lượng, trọng lượng phân tử là trọng lượng phân tử trung bình trọng lượng, nhiệt độ là theo độ bách phân, và áp suất là ở áp suất khí quyển hoặc gần áp suất khí quyển. Có thể sử dụng các chữ viết tắt tiêu chuẩn, ví dụ, bp, (các) cặp bazơ; kb, (các) kilobazơ; pl, (các) picolit; s hoặc sec, (các) giây; min, (các) phút; h hoặc hr, (các) giờ; aa, (các) axit amin; kb, (các) kilobazơ; bp, (các) cặp bazơ; nt, (các) nucleotit; i.m., (theo kiểu) trong cơ; i.p., (theo kiểu) trong màng bụng; s.c., (theo kiểu) dưới da; và các loại tương tự.

Ví dụ 1: Sản xuất các kháng thể đơn dòng kháng yếu tố Bb

Các kháng thể đơn dòng kháng yếu tố Bb (“các mAb kháng yếu tố Bb”) M4, M10, M12, M17, M18, và M20 được sản xuất như sau: Quá trình gây miễn dịch chuột NZBW bằng protein yếu tố Bb được tinh chế của người đã tạo ra thư viện khối tế bào lai mà được sàng lọc về khả năng liên kết vào đích bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này (Antibody Solutions; ví dụ, xem tài liệu: Galfre et al., *Methods in Enzymology* 73:346 (1981)). Phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy được sử dụng để tạo ra các dòng vô tính tế bào đơn lẻ, và các dịch nổi ở trên từ các dòng vô tính riêng biệt này được sàng lọc về khả năng liên kết ưu tiên vào yếu tố Bb so với yếu tố B có chiều dài đầy đủ bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA) trực tiếp, như loại được bộc lộ, ví dụ, trong tài liệu: Nix et al., trong *Immunoassays, A Practical Approach*, editor J.P. Gosling, pp. 239-261, Oxford University Press (2000). Hai mươi dòng vô tính được chọn lựa mà đã thể hiện các mức độ liên kết đặc hiệu khác nhau vào yếu tố Bb hơn yếu tố B. Các dòng vô tính này được phát triển trong môi trường nuôi cấy, và các kháng thể đơn dòng được tinh chế từ các dịch nổi ở trên của khối tế bào lai. Các mAb đã được tinh chế được sàng lọc thêm về mức ức chế hoạt tính con đường thay thế khác (AP) bằng cách sử dụng kit WIESLAB dùng cho Con đường Thay thế khác của Hệ thống Bổ thể (Euro Diagnostica, Thụy Điển). Từ các kết quả này, 6 dòng vô tính được chọn cho phép phân tích thêm.

Ví dụ 2: Khả năng liên kết các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb của người

Các trị số EC₅₀ tương đối của các mAb kháng yếu tố Bb được xác định bằng ELISA. Yếu tố Bb được tinh chế và chưa được đánh dấu của người (Complement

Technologies; 1 $\mu\text{g/ml}$) được phủ lên trên đĩa ELISA có khả năng liên kết cao, và được ủ với các lượng tăng dần của các mAb đã được tinh chế (các dung dịch pha loãng theo dãy nối tiếp 3 lần bắt đầu ở mức 10 $\mu\text{g/ml}$). Kháng thể thứ cấp của dê kháng của chuột được tiếp hợp với peroxidaza cải ngựa (horse radish peroxidase-HRP) (Southern Biotech) được sử dụng cho việc phát hiện, và được cho phản ứng với Dung dịch Chất nền Siêu TMB-ELISA 1-Bước 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) (Thermo Scientific). Các phản ứng được kết thúc bằng một thể tích ngang bằng của axit sulfuric 1N; và độ hấp thụ ở $\text{OD}_{450\text{nm}}$ được đo. Dữ liệu này được thể hiện ở Hình 1. EC_{50} của mỗi kháng thể đơn dòng được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm PRISM; các trị số EC_{50} được liệt kê ở Hình 2. Tất cả các mAb đã thể hiện ái lực tốt với hầu hết có EC_{50} trong khoảng dưới nanomol.

Hình 1. Khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb được tinh chế vào yếu tố Bb của người.

Hình 2. Ái lực liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb của người

Ví dụ 3: Tính đặc hiệu của các mAb kháng yếu tố Bb đối với yếu tố Bb đã được hoạt hóa

Khả năng liên kết ưu tiên của các kháng thể kháng yếu tố Bb vào yếu tố B đã được hoạt hóa so với tiền enzym yếu tố B có chiều dài đầy đủ được xác định trong dạng thức ELISA bất kháng nguyên được tối ưu hóa để đánh giá khả năng liên kết vào các protein tan được đích. 1 $\mu\text{g/ml}$ của kháng thể đã được liên kết vào các đĩa được phủ bằng IgG của dê kháng của chuột (Pierce; Thermo Scientific), sau đó là quá trình ủ với yếu tố B hoặc yếu tố Bb được biotin hóa 1 $\mu\text{g/ml}$ (Complement Technologies). Các protein yếu tố Bb/B đã được liên kết được phát hiện bằng streptavidin-HRP và được cho phản ứng với Dung dịch Chất nền Siêu TMB-ELISA 1-Bước TMB (Thermo Scientific). Các phản ứng được kết thúc bằng một thể tích ngang bằng của axit sulfuric 1N; và độ hấp thụ ở $\text{OD}_{450\text{nm}}$ được đo. Tỷ lệ của độ hấp thụ khả năng liên kết bởi yếu tố Bb so với yếu tố B (tỷ lệ fBb/B) được tính toán và các kết quả được thể hiện ở Hình 3. M17 hầu như đã thể hiện tính đặc hiệu hoàn toàn đối với yếu tố Bb, mà không có hiện tượng liên kết có thể phát hiện được nào vào yếu tố B trong thử nghiệm này. M10 và M18 đã thể hiện sự ưu tiên tương tự trong thử nghiệm này (tỷ lệ fBb/B lần lượt là 5,5 và 8,4), trong khi M4, M12 và M20 đã không thể hiện sự ưu tiên nào (tỷ lệ fBb/B ≥ 1).

Khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố B có chiều dài đầy đủ trong dung dịch được đánh giá bằng sắc ký loại trừ theo kích cỡ (size exclusion

chromatography-SEC). Đối với SEC, 100 $\mu\text{g/ml}$ của yếu tố B đã được tinh chế được ủ với lượng dư theo mol lên đến 3 lần của các mAb đã được tinh chế. Sau khi ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng (RT), các mẫu được nạp lên trên cột lọc gel TSKgel G3000SWxl. Sự có mặt của đỉnh trọng lượng phân tử cao hơn mới trong phổ sắc ký, và sự giảm của đỉnh yếu tố B tự do và đỉnh kháng thể tự do, đã thể hiện hiện tượng hình thành phức hợp kháng nguyên:kháng thể. Các kết quả của SEC tương quan chặt chẽ với tính đặc hiệu liên kết được xác định trong ELISA bắt kháng nguyên (Hình 4). M10, M17 và M18, kháng thể này đã thể hiện tính đặc hiệu đối với yếu tố Bb bằng ELISA, cũng đã không liên kết vào yếu tố B có chiều dài đầy đủ trong SEC; M4, M12 và M20 đã không thể hiện tính đặc hiệu liên kết nào bằng ELISA, và theo cách tương tự, tất cả liên kết vào yếu tố B có chiều dài đầy đủ trong SEC.

Hình 3. Khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb được tinh chế vào yếu tố Bb và yếu tố B tan được.

Hình 4. Tính đặc hiệu của khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb so với yếu tố B được xác định bằng ELISA (Hình 3) so với các kết quả thu được bằng sắc ký loại trừ theo kích cỡ (SEC).

Ví dụ 4: Khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb vào các protein của khi đuôi dài

Các mAb kháng yếu tố Bb được thử nghiệm về khả năng của chúng trong việc liên kết vào yếu tố B hoặc yếu tố Bb của khi đuôi dài bằng ELISA. 5 $\mu\text{g/ml}$ của mỗi protein đã được tinh chế (Innovative Research; được tinh chế trong nội bộ tổ chức) được phủ lên trên đĩa ELISA, được ủ với các mAb kháng yếu tố Bb được tinh chế (các dung dịch pha loãng theo dãy nối tiếp 3 lần bắt đầu ở mức 10 $\mu\text{g/ml}$), và kháng thể đã được liên kết được phát hiện như trong Ví dụ 2. Các trị số EC_{50} đối với yếu tố Bb so với yếu tố B được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm PRISM và được thể hiện ở Hình 5.

Hình 5. Khả năng liên kết của các mAb kháng yếu tố Bb được tinh chế vào yếu tố B hoặc yếu tố Bb đã được tinh chế của khi đuôi dài.

Ví dụ 5: Sự ức chế con đường thay thế khác của bổ thể (AP) bằng các mAb kháng yếu tố Bb

Sự ức chế hoạt tính AP của bổ thể bởi các mAb kháng yếu tố Bb được đo bằng cách sử dụng kit WIESLAB® dùng cho Con đường Thay thế khác của Hệ thống Bổ thể. Đây là thử nghiệm dựa trên đĩa mà sử dụng lipopolysaccharit (LPS) để hoạt hóa đặc hiệu

con đường thay thế khác, và kết quả được là mức kết lắng của phức hợp tấn công màng (MAC) đầu tận cùng qua thời gian. Huyết thanh người bình thường 11% (Complement Technologies) được ủ với các dung dịch pha loãng theo dãy nối tiếp 2 lần của các mAb hoặc các đối chứng kiểu tương đương của chuột bắt đầu ở mức 200 µg/ml. V_{max} được xác định đối với mỗi nồng độ và các kết quả được thể hiện ở Hình 6. Tất cả các kháng thể đơn dòng kháng yếu tố Bb có khả năng ức chế quá trình kết lắng MAC do AP làm trung gian, với $M4/M12 > M20 > M10/M18 > M17$.

Sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian và quá trình kết lắng C3b bởi các mAb kháng yếu tố Bb được xác định bằng cách sử dụng huyết thanh người và hồng cầu thỏ trong dung dịch đệm chứa EGTA để ức chế con đường cổ điển. Các mAb kháng yếu tố Bb hoặc các đối chứng kiểu tương đương của chuột (các dung dịch pha loãng 2 lần bắt đầu ở mức 100 µg/ml) được ủ với 10% huyết thanh người và các hồng cầu của thỏ (RBC) ở 37°C trong một giờ. Lượng phân giải được xác định bằng cách đo A_{540nm} của dịch nổi ở trên và trừ độ hấp thụ nền trong các lỗ đối chứng chứa etylen diamin tetraaxit axetic (EDTA). Các kết quả được thể hiện ở Hình 7. Tất cả các mAb kháng yếu tố Bb có khả năng ức chế chứng tán huyết do AP làm trung gian, với $M4/M12 > M20 > M10/M18 > M17$.

Để thử nghiệm quá trình kết lắng sản phẩm tách C3 trên các hồng cầu (RBC), các viên kết tế bào được nhuộm bằng kháng thể kháng C3b (6C9; Thermo Scientific), các tế bào dương tính được phát hiện bằng Alexa-647 của dê kháng của chuột (Thermo Scientific) và được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy. Các kết quả được thể hiện ở Hình 8. Tất cả các mAb kháng yếu tố Bb có khả năng ức chế quá trình kết lắng C3 trên các RBC, với $M4/M12 > M20 > M10/M18 > M17$.

Các trị số IC_{50} của sự ức chế hoạt tính AP bởi các mAb kháng yếu tố Bb trong tất cả ba thử nghiệm được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm PRISM và được thể hiện ở Hình 9. Các trị số IC_{50} được tạo ra trong thử nghiệm Wieslab thì cao hơn một cách nhất quán trong thử nghiệm về chứng tán huyết/quá trình kết lắng C3b, có lẽ do sự thay đổi về nồng độ huyết thanh được sử dụng trong mỗi thử nghiệm hoặc những chênh lệch về số đo chỉ tiêu. Cụ thể là, M17 đặc hiệu với yếu tố Bb thì không hữu hiệu lắm trong thử nghiệm Wieslab so với thử nghiệm về chứng tán huyết (sự chênh lệch 17,7 lần về IC_{50} ; các mAb khác đã thể hiện những chênh lệch từ 4,4 đến 5,9 lần về IC_{50} giữa hai thử nghiệm). Tuy nhiên, tất cả các thử nghiệm đã ghi nhận cùng một độ hiệu nghiệm tương đối giữa các

mAb kháng yếu tố Bb, độ hiệu nghiệm này có tỷ lệ nghịch với tính đặc hiệu của chúng đối với yếu tố Bb.

Hình 6. Sự ức chế hoạt tính AP bằng các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 7. Sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bằng các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 8. Sự ức chế quá trình kết lắng C3b do con đường AP làm trung gian bằng các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 9. Sự so sánh các tác dụng của các mAb kháng yếu tố Bb đối với hoạt tính AP bằng cách sử dụng ba thử nghiệm khác nhau. Các điểm trùng khớp đường cong không tuyến tính và IC_{50} s được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm PRISM.

Ví dụ 5: sự ức chế AP của khi đuôi dài bằng các mAb kháng yếu tố Bb

Sự ức chế hoạt tính con đường thay thế khác của bổ thể (AP) bằng mAb kháng yếu tố Bb M10 được đo bằng cách sử dụng kit WIESLAB® dùng cho Con đường Thay thế khác của Hệ thống Bổ thể. Huyết thanh người bình thường hoặc huyết thanh khi đuôi dài (“cyno”) (Innovative Research; 5,5%) được ủ với các dung dịch pha loãng theo dãy nối tiếp 2 lần của M10 hoặc các đối chứng kiểu tương đương của chuột bắt đầu ở mức 100 $\mu\text{g/ml}$. $V_{\max}$ được xác định đối với mỗi nồng độ và các kết quả được thể hiện ở Hình 10. IC_{50} của M10 trong thử nghiệm này là $9,79\text{E-}8$ và $3,67\text{E-}7$ M lần lượt đối với huyết thanh người và huyết thanh cyno.

Sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bằng các mAb kháng yếu tố Bb được đo bằng cách sử dụng huyết thanh khi đuôi dài và hồng cầu thỏ trong dung dịch đệm chứa EGTA để ức chế con đường cổ điển. Các mAb kháng yếu tố Bb hoặc các đối chứng kiểu tương đương của chuột (các dung dịch pha loãng 2 lần bắt đầu ở mức 100 $\mu\text{g/ml}$) được ủ với huyết thanh khi đuôi dài 5% và các RBC của thỏ ở 37°C trong một giờ. Lượng phân giải được xác định bằng cách đo $A_{540\text{nm}}$ của dịch nổi ở trên và trừ độ hấp thụ nền trong các lỗ đối chứng chứa EDTA. Các kết quả được thể hiện ở Hình 11. M17 không ức chế chứng tán huyết hồng cầu của thỏ do huyết thanh cyno làm trung gian. Các trị số IC_{50} của huyết thanh cyno là như sau: $2,497\text{E-}8$ (M4), $2,202\text{E-}7$ (M10), $2,824\text{E-}8$ (M12), $2,319\text{E-}7$ (M18) và $7,524\text{E-}7$ M (M20).

Hình 10. Sự ức chế hoạt tính AP Wieslab trong huyết thanh người hoặc huyết thanh khi bằng các mAb kháng yếu tố Bb.

Hình 11. Sự ức chế chứng tán huyết RBC của thỏ do con đường AP của cyno làm

trung gian bởi các mAb kháng yếu tố Bb.

Ví dụ 6: Giải trình tự các mAb kháng yếu tố Bb

Giải trình tự axit amin vùng VH và vùng VL của các mAb kháng yếu tố Bb được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này (LakePharma). Cụ thể là, các viên kết tế bào được điều chế từ các dòng tế bào khối tế bào lai và ARN được chiết. Các vùng V được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymeraza-phiên mã ngược (RT-PCR) bằng cách sử dụng các tập hợp đoạn mồi thoái hóa dùng cho các trình tự tín hiệu kháng thể của chuột cùng với các đoạn mồi vùng hằng định dùng cho IgMVH, IgGVH, IgκVL và IgλVL. Các sản phẩm phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) thu được từ mỗi lần trong số các lần khuếch đại thành công được tinh chế và được tạo dòng vô tính vào hệ thống vật truyền tạo dòng vô tính 'TA' mà thu được các trình tự từ đó. Các trình tự axit amin được suy ra của vùng VH và vùng VL, cũng như các CDR, của các mAb kháng yếu tố Bb được đề xuất ở **Hình 12A-12F**. M10 và M18 VL và VH là đồng nhất về trình tự, và M4 và M12 VH và VL là đồng nhất về trình tự.

Ví dụ 7: Quá trình xác định đặc điểm thêm về các mAb kháng Bb

Sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bởi các kháng thể kháng yếu tố Bb đối với các RBC của người được điều trị trước bằng các kháng thể CD55/CD59 (Hình 14)

Các bệnh nhân có bệnh huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm (PNH) mắc chứng phân giải các hồng cầu (RBC) của họ do bổ thể làm trung gian do sự thiếu các yếu tố điều hòa bổ thể (CD55 và CD59) trên bề mặt tế bào. Việc điều trị trước bằng các kháng thể trung hòa kháng CD55 và CD59 làm cho các RBC khỏe mạnh để bị ảnh hưởng bởi quá trình phân giải do bổ thể làm trung gian.

Các hồng cầu người bình thường được điều trị trước bằng kháng thể kháng CD55 và kháng thể kháng CD59 được ủ với huyết thanh người bình thường 20% chứa các mức nồng độ khác nhau của các kháng thể kháng yếu tố Bb là M4, M10, M17 và M20 cũng như IgG2a của chuột (đối chứng kiểu tương đương). Dung dịch đệm phản ứng đã chứa Mg EGTA 10 mM để phong bế các con đường bổ thể lectin và cổ điển. Sau 120 phút ở 37°C, các tế bào được ly tâm. Lượng phân giải được xác định bằng cách đo A_{540nm} của dịch nổi ở trên và trừ độ hấp thụ nền trong các lỗ đối chứng chứa EDTA. Các kết quả được thể hiện ở Hình 14. Chỉ thu được sự ức chế hoàn toàn chứng tán huyết bằng kháng thể M10.

Sản xuất các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb

Bằng cách sử dụng các trình tự ADN từ ví dụ 6, các miền biến đổi của các dòng vô tính khối tế bào lai M4 và M10 được tổng hợp (DNA 2.0) cùng với các trình tự kẹp hai bên phụ thêm cần thiết cho quá trình tạo dòng vô tính. Các miền biến đổi được tạo dòng vô tính vào vật truyền biểu hiện mà tạo ra kháng thể thể khảm được hợp thành từ các vùng biến đổi của chuột và vùng Fc/vùng hằng định của IgG4 của người. Các cấu trúc này được chuyển nhiễm vào tế bào HEK293 và được tinh chế từ các dịch nổi ở trên của môi trường nuôi cấy bằng cách sử dụng Protein A Sepharosa. Kháng thể thể khảm chứa vùng biến đổi của M10 thì được gọi là “M10 thể khảm”. Kháng thể thể khảm chứa vùng biến đổi của M4 thì được gọi là “M4 thể khảm.”

Sự ức chế con đường thay thế khác của bổ thể (AP) bởi các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb (Hình 15)

Sự ức chế hoạt tính AP của bổ thể bởi các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb là M10 thể khảm và M4 thể khảm được đo bằng cách sử dụng kit WIESLAB® dùng cho Con đường Thay thế khác của Hệ thống Bổ thể. Huyết thanh người bình thường 11% (NHS; Complement Technologies) được ủ với dung dịch pha loãng theo dãy nối tiếp 2 lần của các kháng thể thể khảm hoặc các kháng thể đơn dòng của chuột mẹ của chúng, bắt đầu ở mức 300 µg/ml. Vào lúc kết thúc thử nghiệm này, A405 được đo. Dữ liệu này được thể hiện ở Hình 15. A405 là tỷ lệ với lượng của phức hợp tấn công màng (membrane attack complex-MAC) đầu tận cùng được kết lắng trên đĩa. A405 được vẽ đồ thị so với nồng độ kháng thể. Các kháng thể thể khảm được phát hiện là có các độ công hiệu tương tự trong thử nghiệm Con đường Thay thế khác Wieslab khi so với các kháng thể đơn dòng của chuột mẹ tương ứng của chúng.

Sự ức chế chứng tán huyết do con đường AP làm trung gian bởi kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb trên các RBC từ bệnh nhân có bệnh huyết sắc tố niệu kịch phát về đêm (PNH) (Hình 16)

Các hồng cầu người từ bệnh nhân PNH được ủ với huyết thanh người loại O+ 20% chứa các mức nồng độ khác nhau của M10 thể khảm (thể khảm người/chuột của M10), kháng thể kháng C5 của người, hoặc IgG4 của người (đối chứng kiểu tương đương). Dung dịch đệm phản ứng đã chứa Mg EGTA 10 mM để phong bế các con đường bổ thể lectin và cổ điển. Sau 180 phút ở 37°C, các tế bào được ly tâm. Lượng phân giải được xác định bằng cách đo A_{540nm} của dịch nổi ở trên và trừ độ hấp thụ nền trong các lỗ

đối chứng chứa EDTA. Các kết quả được thể hiện ở Hình 16. Chỉ thu được sự ức chế hoàn toàn chứng tán huyết bằng kháng thể thể khảm M10.

Dược động học của các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài (Hình 17)

Để xác định các thuộc tính dược động của các kháng thể kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài, mỗi kháng thể M10 thể khảm và M4 thể khảm được tiêm theo kiểu trong tĩnh mạch vào 3 con khi ở mức 30mg/kg. Vào các thời điểm khác nhau sau tiêm, lấy các mẫu huyết tương cho phép phân tích. M10 thể khảm hoặc M4 thể khảm tự do trong các mẫu huyết tương đã được pha loãng được bắt bằng protein yếu tố Bb (fBb) trên đĩa vi chuẩn độ thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA) có khả năng liên kết cao. Kháng thể đã được bắt được phát hiện bằng kháng thể thứ cấp IgG của dê kháng của người được tiếp hợp với enzym peroxidaza cải ngựa (HRP). Các đĩa vi chuẩn độ được rửa để loại bỏ các chất phản ứng chưa liên kết bất kỳ và sau đó, cho chất nền tetramethylbenzidin (TMB) phản ứng với HRP đã được làm bất động để thu được sản phẩm tạo màu. Độ hấp thụ của sản phẩm tạo màu này ở bước sóng là 450 nm là tỷ lệ thuận với nồng độ của M10 thể khảm hoặc M4 thể khảm trong mẫu. Dữ liệu từ ELISA được phân tích bằng cách sử dụng hàm số vẽ đồ thị XY và hàm số hồi quy tuyến tính Logistic 4-Tham số (4PL) trong phần mềm GraphPad Prism để xác định lượng của M10 thể khảm hoặc M4 thể khảm tự do có mặt ở mỗi thời điểm sau khi cho dùng theo liều. Dữ liệu này được thể hiện ở Hình 17.

Dược lực học của các kháng thể thể khảm kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài (Hình 18 và Hình 19)

Để xác định các thuộc tính dược lực của các kháng thể kháng yếu tố Bb ở khi đuôi dài, mỗi M10 thể khảm và M4 thể khảm được tiêm theo kiểu trong tĩnh mạch vào 3 con khi ở mức 30mg/kg. Vào các thời điểm khác nhau sau tiêm, lấy các mẫu huyết thanh cho phép phân tích. Các hoạt tính của con đường thay thế khác của bổ thể (CAP) và con đường cổ điển của bổ thể (CCP) của các mẫu huyết thanh được xác định lần lượt bằng cách sử dụng kit WIESLAB® dùng cho Con đường Thay thế khác của Hệ thống Bổ thể và kit WIESLAB® dùng cho Con đường Cổ điển, theo các hướng dẫn được khuyến nghị của nhà sản xuất. Nồng độ huyết thanh là 5,5% và 0,99% được sử dụng lần lượt trong thử nghiệm con đường thay thế khác và thử nghiệm con đường cổ điển. Các biểu đồ được đưa ra ở Hình 18 và Hình 19 được chuẩn hóa theo hoạt tính của huyết thanh trước khi tiêm kháng thể. Như được thể hiện ở Hình 18, M10 thể khảm ức chế hoạt tính CAP,

nhưng không phải hoạt tính CCP. Như được thể hiện ở Hình 19, M4 thể khảm ức chế hoạt tính CAP, và ức chế hoạt tính CCP đến một mức độ thấp hơn so với sự ức chế hoạt tính CAP.

M4 thể khảm kích thích sự suy thoái C3 trong huyết thanh người *in vitro* (Hình 20)

M4 thể khảm được bổ sung vào huyết thanh người bình thường ở nồng độ là 0,1mg/ml và được ủ ở 37°C. Vào các thời điểm khác nhau, lấy mẫu cho phép phân tích thẩm tách phương Tây với kháng thể đa dòng C3 của thỏ kháng của người. Trong vai trò là đối chứng âm, dung dịch đệm được bổ sung vào huyết thanh. Trong vai trò là đối chứng dương, yếu tố nọc độc rắn hổ mang (cobra venom factor-CVF), một protein đã biết là có tác dụng kích thích sự suy thoái C3, được bổ sung vào huyết thanh người bình thường. Như được thể hiện ở Hình 20, tương tự với yếu tố nọc độc rắn hổ mang, M4 thể khảm đã kích thích sự suy thoái C3 theo phương thức phụ thuộc vào thời gian.

M4 thể khảm kích thích sự suy thoái C3 ở khí đuôi dài *in vivo* (Hình 21)

Các mẫu huyết thanh của khí đuôi dài từ mức tiêm 30mg/kg của M10 thể khảm và M4 thể khảm được thử nghiệm về các mức C3 bằng cách sử dụng ELISA bánh kẹp. Nói một cách vắn gọn, kháng thể C3 của dê kháng của người đã được tinh chế được phủ lên trên đĩa ELISA có khả năng liên kết cao. Sau khi phong bế, các đĩa được ủ với các mẫu huyết tương được lấy ở các thời điểm khác nhau sau khi tiêm M10 thể khảm và M4 thể khảm vào các con khí. Sau khi rửa, sau đó, các đĩa được ủ với kháng thể C3a của thỏ kháng của người được biotin hóa. Sau một lần rửa phụ thêm, các đĩa được ủ với Streptavidin-peroxidaza cải ngựa (HRP). Các đĩa vi chuẩn độ được rửa để loại bỏ các chất phản ứng chưa liên kết bất kỳ và sau đó, cho chất nền tetrametylbenzidin (TMB) phản ứng với HRP đã được làm bất động để thu được sản phẩm tạo màu. Độ hấp thụ của sản phẩm tạo màu này ở bước sóng là 450 nm là tỷ lệ thuận với nồng độ của C3 trong mẫu. Như được thể hiện ở Hình 21 (ô trên), không có sự thay đổi nào về mức C3 được quan sát sau khi tiêm M10 thể khảm. Như được thể hiện ở Hình 21 (ô dưới), đã quan sát thấy hiện tượng mất C3 nhanh sau khi tiêm M4 thể khảm.

Kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb phong bế hoạt tính Yếu tố tăng tốc hiện tượng phân rã (DAF) của yếu tố H (Hình 22)

Bằng cách sử dụng Hệ thống Octet (Pall ForteBio), tác dụng của kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb đối với tốc độ phân ly của C3 Convertaza bởi yếu tố H (FH) được

kiểm tra. Nói một cách vắn gọn, properdin đã được biotin hóa được điều chế và được liên kết vào các mẫu dò Octet được phủ bằng Streptavidin. Sau đó, các mẫu dò properdin đã được liên kết được ủ trong dung dịch chứa C3 convertaza mà được điều chế bằng cách trộn C3b, Yếu tố B (FB), và Yếu tố D (FD). Khi mà C3 convertaza liên kết mẫu dò properdin, mức kết hợp được đo. Sau đó, mẫu dò được chuyển sang dung dịch chỉ chứa dung dịch đệm để đo mức phân ly của C3 convertaza từ mẫu dò đã được liên kết properdin. Như được thể hiện ở Hình 22, khi Yếu tố H được bổ sung trong suốt bước phân ly, hiện tượng phân ly nhanh của C3 convertaza từ mẫu dò properdin có thể được đo (phía trên cùng bên phải). Như được thể hiện ở Hình 22, khi C3 convertaza được điều chế khi sự có mặt M4, đã không quan sát thấy hiện tượng phân ly nhanh của C3 convertaza bởi yếu tố H.

Kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb không phong bế hoạt tính DAF của CD55 (Hình 23)

Bằng cách sử dụng Hệ thống Octet (Pall ForteBio), tác dụng của kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb đối với tốc độ phân ly của C3 Convertaza bởi CD55 được kiểm tra. Nói một cách vắn gọn, properdin đã được biotin hóa được điều chế và được liên kết vào các mẫu dò Octet được phủ bằng Streptavidin. Sau đó, các mẫu dò properdin đã được liên kết được ủ trong dung dịch chứa C3 convertaza (với kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb đã được liên kết) mà được điều chế bằng cách trộn C3b, Yếu tố B, kháng thể M4 kháng yếu tố B/Bb và Yếu tố D. Khi mà C3 convertaza (với kháng thể đã được liên kết) liên kết mẫu dò properdin, thì mức kết hợp được đo. Sau đó, mẫu dò được chuyển sang dung dịch chỉ chứa dung dịch đệm để đo mức phân ly của C3 convertaza (với kháng thể đã được liên kết) từ mẫu dò đã được liên kết properdin. Như được thể hiện ở Hình 23, khi CD55 được bổ sung trong suốt bước phân ly, hiện tượng phân ly nhanh của C3 convertaza (với kháng thể đã được liên kết) từ mẫu dò properdin có thể được đo (đáy). Dữ liệu này thể hiện rằng khả năng liên kết của kháng thể kháng yếu tố B/Bb vào C3 convertaza không phong bế khả năng của CD55 trong việc phân ly phức hợp C3 convertaza.

Trong khi sáng chế này đã được mô tả liên quan đến các phương án cụ thể của nó, thì chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này cần phải hiểu rằng có thể tạo ra các thay đổi khác nhau và có thể thể các phương án tương đương mà không đi trệch khỏi tinh thần và phạm vi thực sự của sáng chế. Ngoài ra, có thể tạo ra nhiều dạng cải biến để làm cho một tình huống, chất liệu, thành phần của vật chất, quy trình, bước hoặc các bước của quy

trình, thích ứng với mục tiêu, tinh thần và phạm vi của sáng chế này. Tất cả các dạng cải biến như vậy được dự định là trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được nhân tính hóa mà liên kết đặc hiệu với yếu tố bổ thể Bb, trong đó kháng thể này bao gồm:

các vùng quyết định tính bổ trợ (complementarity determining region-CDR) chuỗi nhẹ của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và

các CDR chuỗi nặng của vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) của kháng thể bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

2. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này liên kết với protein Bb bổ thể của người với ái lực ít nhất bằng 10^{-8} M.

3. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này ức chế quá trình phân cắt C3 do C3b/Bb làm trung gian.

4. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa.

5. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa.

6. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm vùng khung chuỗi nhẹ được nhân tính hóa và vùng khung chuỗi nặng được nhân tính hóa.

7. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này được chọn lựa từ nhóm gồm monome Ig, đoạn Fab, đoạn F(ab')₂, đoạn Fd, scFv, scAb, và Fv.

8. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể bao gồm vùng chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở các polypeptit tách biệt.

9. Kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm vùng

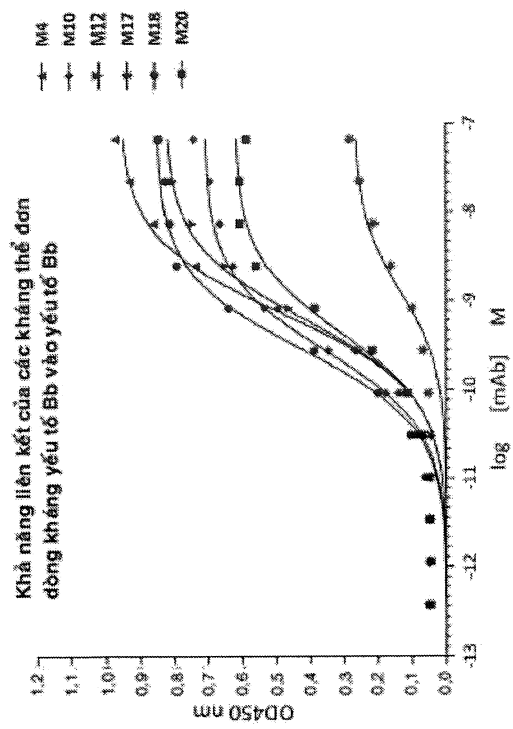
chuỗi nhẹ và vùng chuỗi nặng mà có mặt ở một polypeptit đơn lẻ.

10. Dược phẩm chứa kháng thể được nhân tính hóa theo điểm 1 và tá dược được dụng.

11. Đồ chứa vô trùng chứa dược phẩm theo điểm 10.

12. Kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi chuỗi nặng mà bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8.

1/28



Hình 1

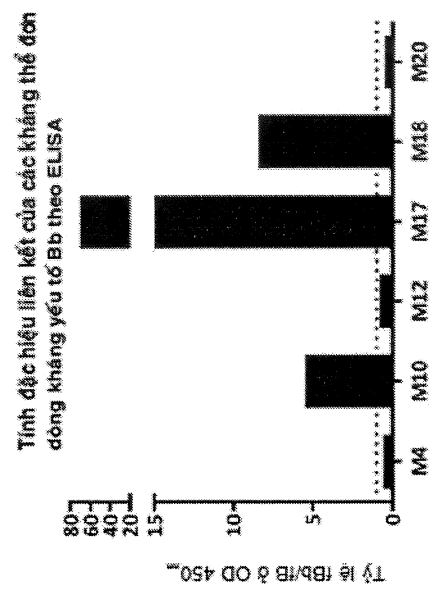
2/28

Khả năng liên kết của mAb kháng yếu tố Bb

Dòng vô tính	Khả năng liên kết vào yếu tố Bb (EC₅₀, M)
M4	8,735e-010
M10	3,345e-010
M12	7,612e-010
M17	3,140e-009
M18	3,360e-010
M20	5,461e-010

Hình 2

3/28



Hình 3

Tính đặc hiệu liên kết vào yếu tố B so với yếu tố Bb

Dòng vô tính kháng yếu tố Bb	Tỷ lệ fBb/fB ở OD (ELISA)	Khả năng liên kết vào yếu tố B trong dung dịch (SEC)
M14	00,59	+
M10	05,49	-
M12	00,82	+
M17	70,66	-
M18	08,40	-
M20	00,50	+

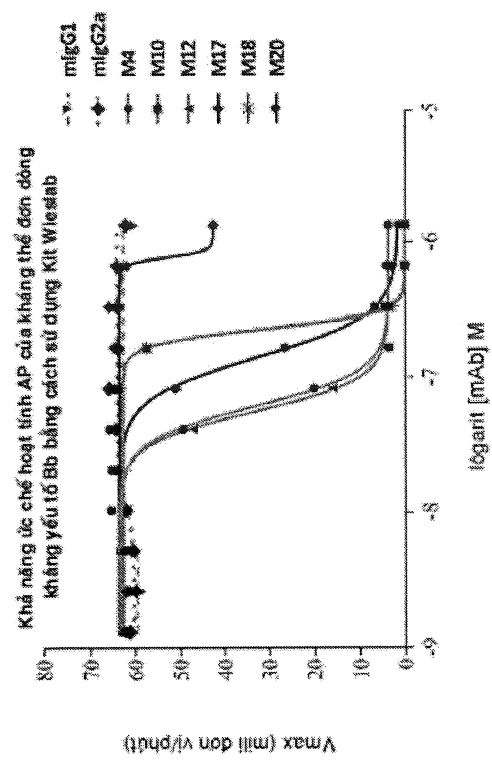
Hình 4

Khả năng liên kết của mAb kháng yếu tố Bb vào yếu tố Bb và yếu tố B của cyno

Ái lực liên kết (M)						
	M10	M12	M14	M17	M18	M20
Yếu tố B	3,493E-09	5,563E-09	7,813E-09	Không phát hiện được	4,985E-09	2,551E-08
Yếu tố Bb	4,88E-10	2,554E-09	2,503E-09	~2,639E-009	4,488E-10	7,163E-08

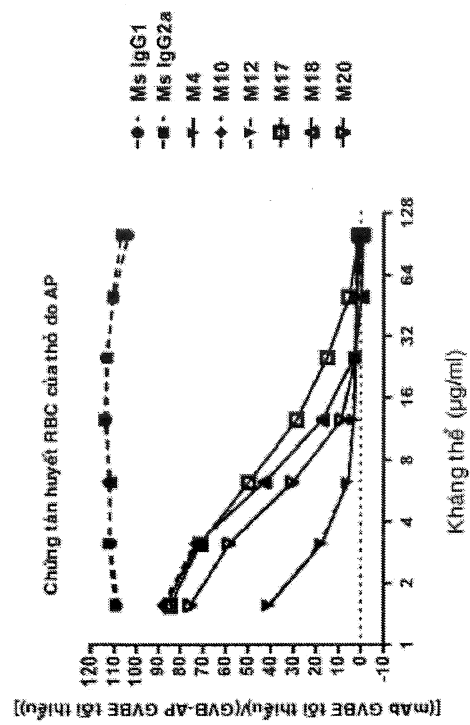
Hình 5

6/28



Hình 6

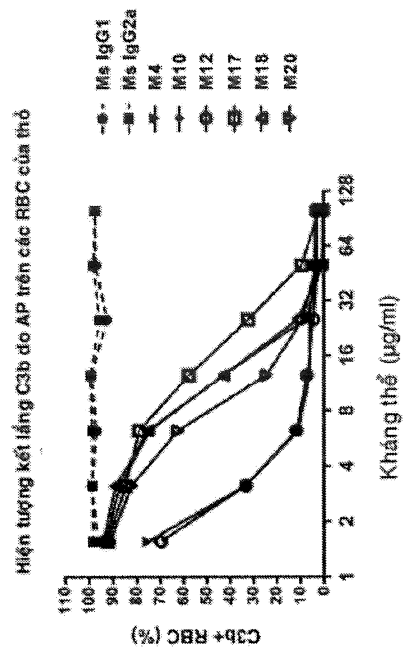
7/28



Hình 7

8/28

Khả năng ức chế hiện tượng kết lắng C3b do AP làm
trung gian trên RBC của thỏ bởi các kháng thể đơn
dòng kháng yếu tố Bb



Hình 8

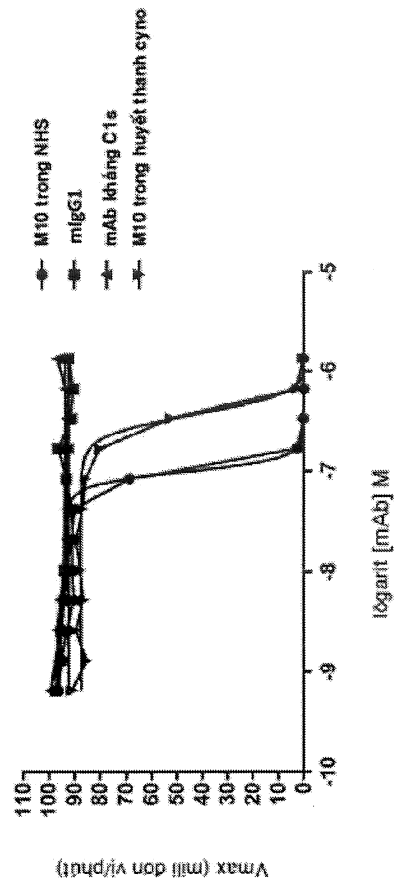
Khả năng ức chế hoạt tính AP của bề thể bởi các kháng thể đơn dòng kháng yếu tố Bb

Dòng vô tính	AP theo Wiestlab (IC ₅₀ , M)	Chứng tán huyết do AP (IC ₅₀ , M)	Mức kết lắng C3b (IC ₅₀ , M)
M4	6,090E-008	1,32E-08	1,4E-08
M10	2,287E-007	3,84E-08	7,78E-08
M12	5,550E-008	1,17E-08	1,22E-08
M17	~ 7,706E-007	4,34E-08	1,2E-07
M18	2,258E-007	3,96E-08	7,68E-08
M20	1,417E-007	3,19E-08	5,41E-08

Hình 9

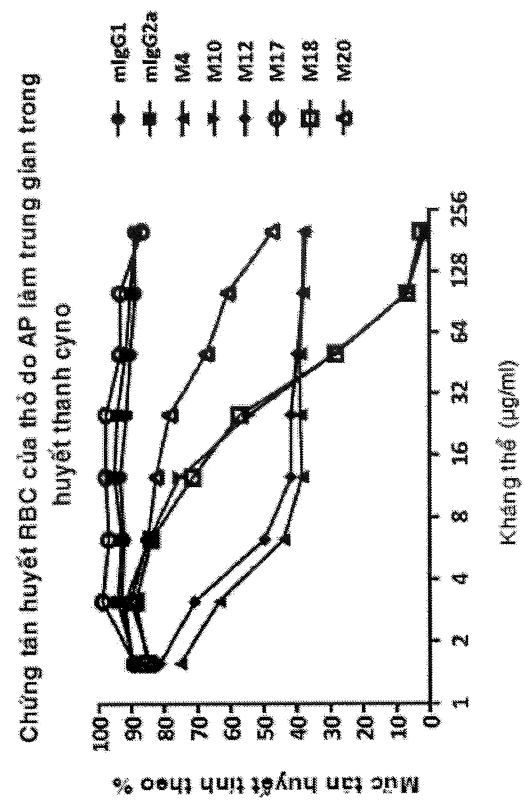
10/28

Khả năng ức chế hoạt tính AP của bố thể ở cyno bởi
các kháng thể đơn dòng kháng yếu tố Bb



Hình 10

11/28



Hình 11

Bảng 1: Các trình tự kháng thể kháng yếu tố Bb

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 7
VL của M10	QDVGTA	WAS	HCHSNELT	DIYNTQSHKFTMSISVGRVSIICKA SQDVGTAVAWYQKPKGQSPKLIYW ASTRHFGVPRDFTSGSGTDFTLTI TNVQSEDLAVYFCHGHSSNPLTGA GTKLELK
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 8
VH của M10	GFTHNYA	ISNRGSYT	ARERPNDY	EVQLVESGGGLVKGSSSLKLSCAAS GFTHSNYAMSVVROTPEKELEWAT ISNRGSYTYVPSVKGRFTISRDNA KNTLYLQMSLIRSEDTALNYCARER PMDYAGQGSVTYSS

Hình 12A

Bảng 1, tiếp tục

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
VL của M4	SEQ ID NO: 9 KSLHNSGITY	SEQ ID NO: 10 RMS	SEQ ID NO: 11 AQLERPEW	SEQ ID NO: 15 DIVTQAAPSNFVTLGTASISCS SKSLHNSGITYLYWYLRPGQSPQ LLIYMSNLASGVDFRSGSGGTD FTLRISKVEAFDAGVYYCAQMLERF NTGGGTKLEIK
VH của M4	SEQ ID NO: 12 GYSFTDYL	SEQ ID NO: 13 INPYNGDA	SEQ ID NO: 14 ARLENDYGFTY	SEQ ID NO: 16 EVQLQQSGPELVKPGASVAMSKAS GYSFTDYLMMWVQSHGKSLHWGR INPYNGDAFYNQRFKKKATLTVDKS SSAHMELRSITSDSDSALYYCARLE NDYGFTYWGQSTLVYSA

Hình 12B

Bảng 1, tiếp tục

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
VL của M20	SEQ ID NO: 17 QGINNY	SEQ ID NO: 18 YTS	SEQ ID NO: 19 QQSKLENT	SEQ ID NO: 23 THYPASSGGINAEYMGDRVTISCSA SGGINNYINNYCKRPDQTYKLLIYY TSSLHSGVPSRPSGSGSGTGYSLTI SNLEPEDWATYYQQHSHKLPWFEGG GKLEIK
	SEQ ID NO: 20 GFSLSTFGLG	SEQ ID NO: 21 IWNNDIK	SEQ ID NO: 22 VQIPYGERNGEDY	SEQ ID NO: 24 QVTKAESGPGILQPTQLSLTCSFS GFSLSTFGLGYGNIRQPSGKGLHL ASTWNDKYYNEDLKRRPTISRDT SNSQVFLKISSVDTADTATYFCVQI PYGSRNGEDYMSGGTSLTVSS
VH của M20				

Hình 12C

Bảng 1, tiếp tục

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
VL của M17	SEQ ID NO: 25 QDVGSA	SEQ ID NO: 2 WAS	SEQ ID NO: 26 QQYSSYPYT	SEQ ID NO: 30 DIYNTPSHREFMSTSYGDRVSTCKA SQDWGSAVANYQQKPGHSPKLLIFW ASTRHIGVDPDRFTGSGSGIDFTLTI SNVQSEDLADYEQQYSSYPYTFGG GTRLEIK
VH của M17	SEQ ID NO: 27 GFTTSNEA	SEQ ID NO: 28 ISNGGGYT	SEQ ID NO: 29 ARIYVGSSTVEWFAY	SEQ ID NO: 31 EVQLVESGGVLVKPGGSLKLSCAAS GFTTSNEAFMSWVQCTDAKRLRWAT ISNGGGTYYPDSVQGTTCRDA NNILYLQMSLSRSEDRIYYCARIY YGSSTEDWPAFWGGGLATVGA

Hình 12D

Bảng 1, tiếp tục

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
VL của M18 (có cùng một trình tự với VL của M10)	SEQ ID NO: 1 QDVGTA	SEQ ID NO: 2 WAS	SEQ ID NO: 3 HDSNNPLT	SEQ ID NO: 7 DIVMTQSHKFKWSTSVCDRYSIITCKA SQDVGTAVAWYQCKPGQSPKLLIYW ASTNHTGVDPDFTGSGSGTDFITLI TINQSEDLAVYFCHQHSSNELTGA GTKLELK
VH của M18 (có cùng một trình tự với VH của M10)	SEQ ID NO: 4 GETFSNYA	SEQ ID NO: 5 IGNRGSYT	SEQ ID NO: 6 APERENDY	SEQ ID NO: 8 EVLVVEGCGALVKPGCSLALSCARR GETFSNVAMSNVQTPERPLENVAT ISNRGSYTYZPESUKGRFTISRDA KNTLYLQMSLSLESDALYYCARER FMDINGQGISVTVES

Hình 12E

Bảng 1, tiếp tục

Kháng thể	CDR-1	CDR-2	CDR-3	Vùng V
VL của M12 (có cùng một trình tự với VL của M4)	SEQ ID NO: 9 KSLRHSNGITY	SEQ ID NO: 10 RMS	SEQ ID NO: 11 AQMRLRWPT	SEQ ID NO: 15 DIVMTQAFSNFVTLGTSASIGCSS SKELLHSNGITYLYNVLQRPQSPQ LLIYBMSNLASGYEDRFSCSGCTD FTLRISVRRAEINGVYYCAQMLERP WTFGGQTKLEIK
	SEQ ID NO: 12 GYSTDYL	SEQ ID NO: 13 INPINGDA	SEQ ID NO: 14 ARLENDYGFTY	SEQ ID NO: 16 EVQLQSGGSELMFEGASVKMSCKAS GYSTDYLMNWVQSHGHSLENIQR INPINGDAFYNDQEFKGRATLTVDKS SSTAHPELRSLTSEDSALYYCARLE NDYGFTYNGQGTLLVTSVA
VH của M12 (có cùng một trình tự với VL của M4)				

Hệ thống đánh số MGT được sử dụng để nhận diện các CDR (ref. Lefranc, M.-P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)).

Hình 12F

18/28

Hình 13

Yếu tố Bb

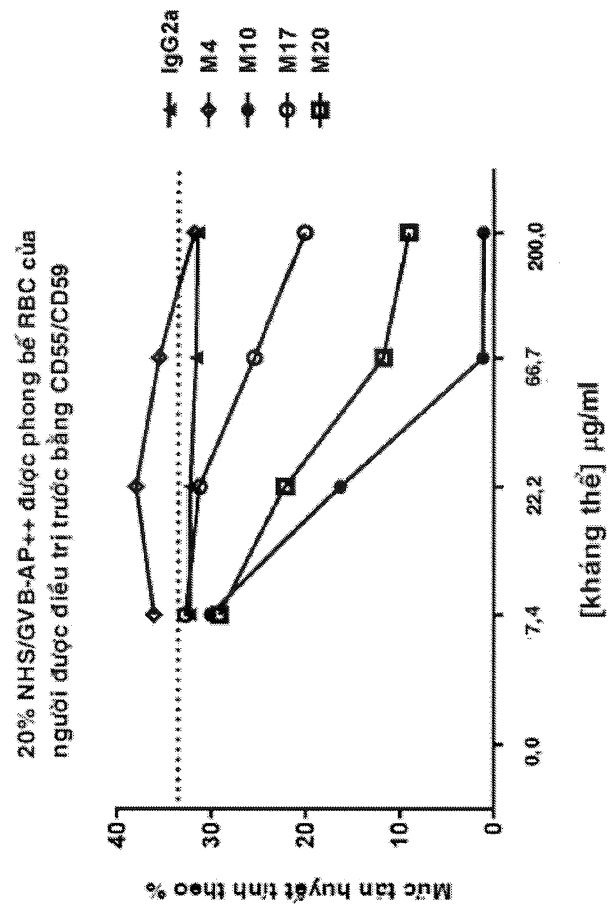
```

1  mgnlspqclc lmpfilglls gvtttpwcl arpggscle gveikgsfr llqegaley
61  vcpsqfypvp vqtrcrstg swatlktdqg ktrkaeora lncprphdfe ngeywrspy
121  ynvdeleisfh cydytllrgs antrcqvngr wsgqtaicdn gagycsnrgi pigtrkvgsq
181  yrledsvtyh csrgltllrgs qrttcqeggs wstqpscdq sfnydtppqev aeafllsile
241  tiegdaedg hpgqegdkrx ividpsgann iyivldgsds iqasnftgak kolvnliekv
301  asygvkpryg lvtvatyptk wkvseadas nadwvtkqln einyedhkk sgtnkkalq
361  avysamswpd dvpegnwrt rhvillmtqg lhmggdpsit videirdlly igdkkapre
421  dyldivyrfvg gplvngvnn alaskkdneg hvfkvkdnen ledvfymid esqslclgm
481  vwehrgtdy hkgpwgakie virpskghes cmqavvseyf vltaabctv dckehsikve
541  vggckrdlel evvlfbpny inkkeagip efydydvali klnklkygq tirpblpct
601  egttralrilp ptttcqgqke elipagdika lfvsееееkkl trkevylkng dkggsceerda
661  qyapgydkvk disevvtprf lctogvspy dpatcrqdsq gpllvhkrsr fiqvgviswq
721  vdvcknqkr qkqvpahard fainlfqvlp wlkekloqed lqfl

```

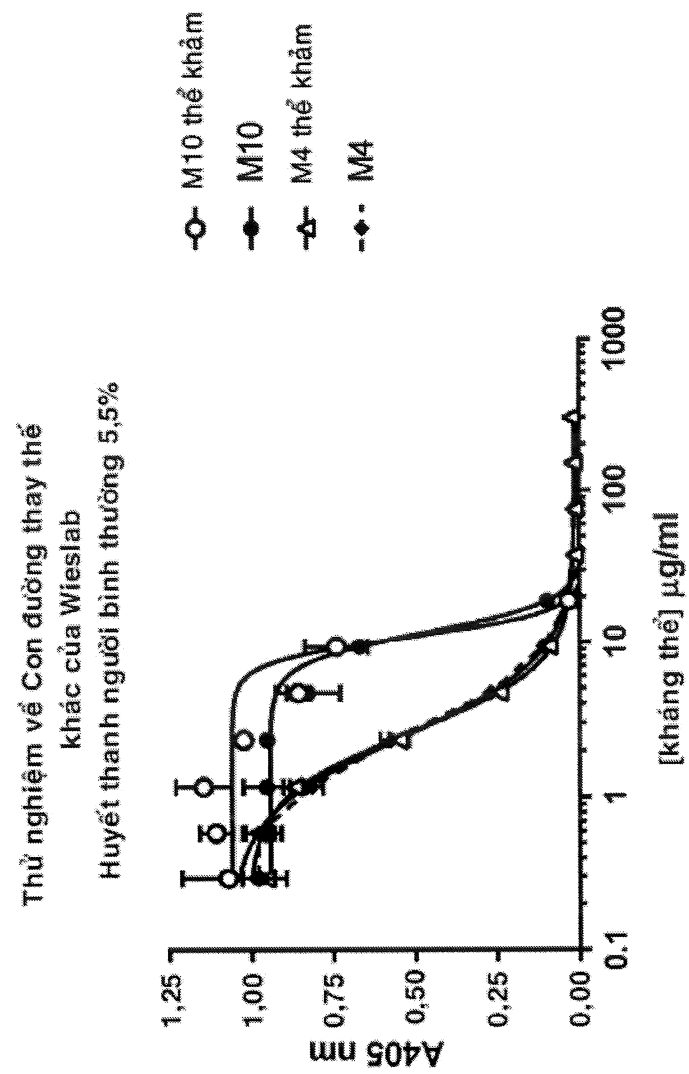
19/28

Hình 14

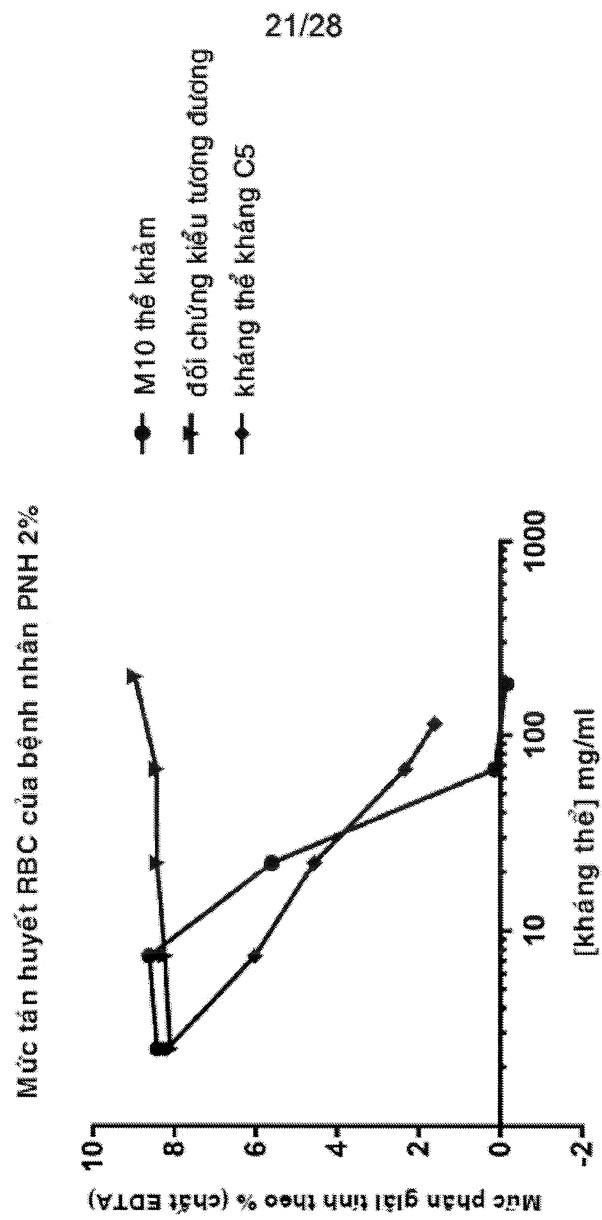


20/28

Hình 15

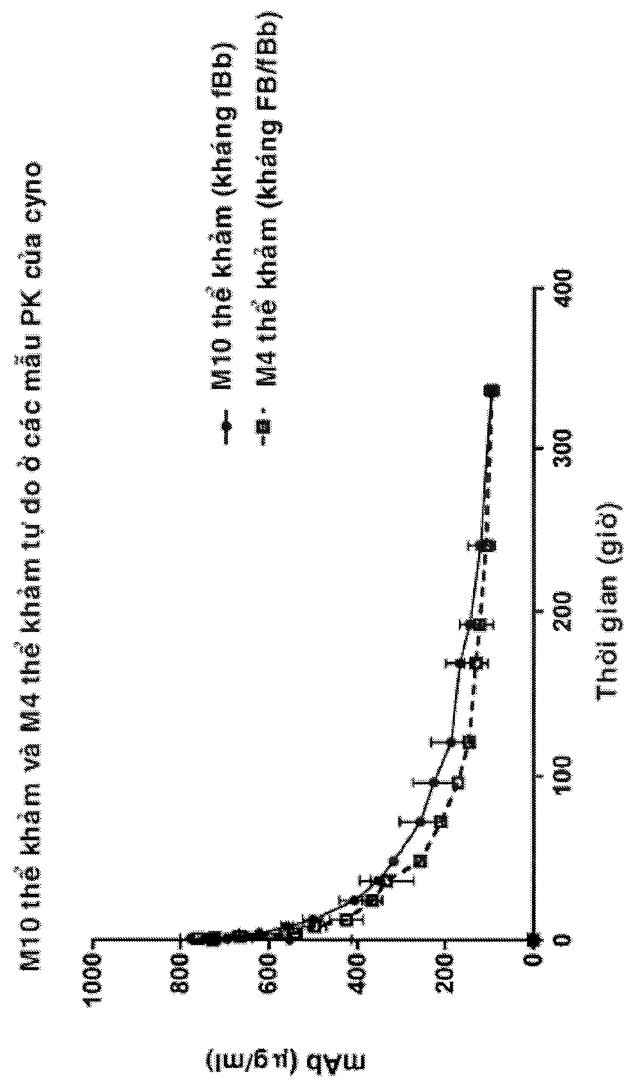


Hình 16



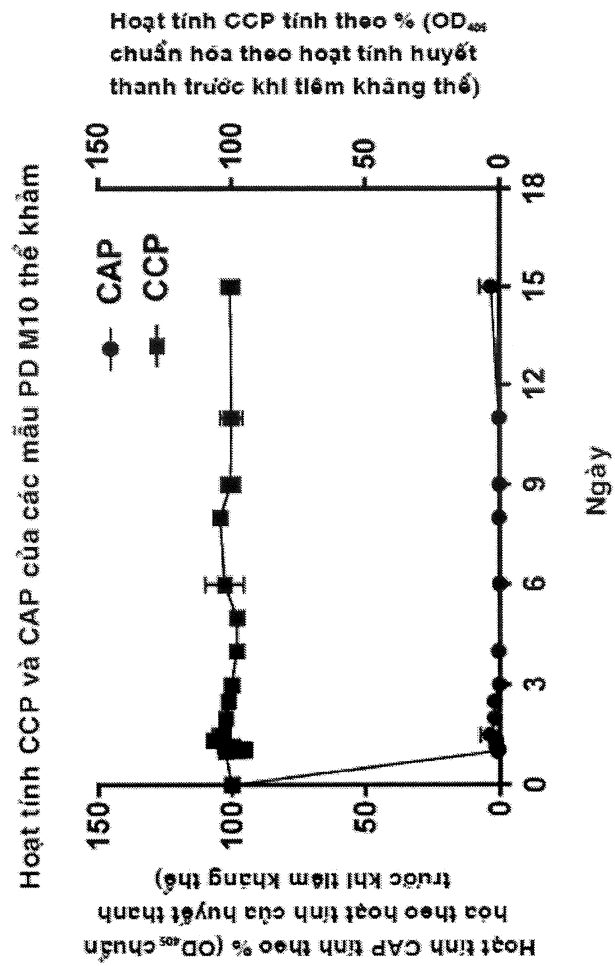
22/28

Hình 17



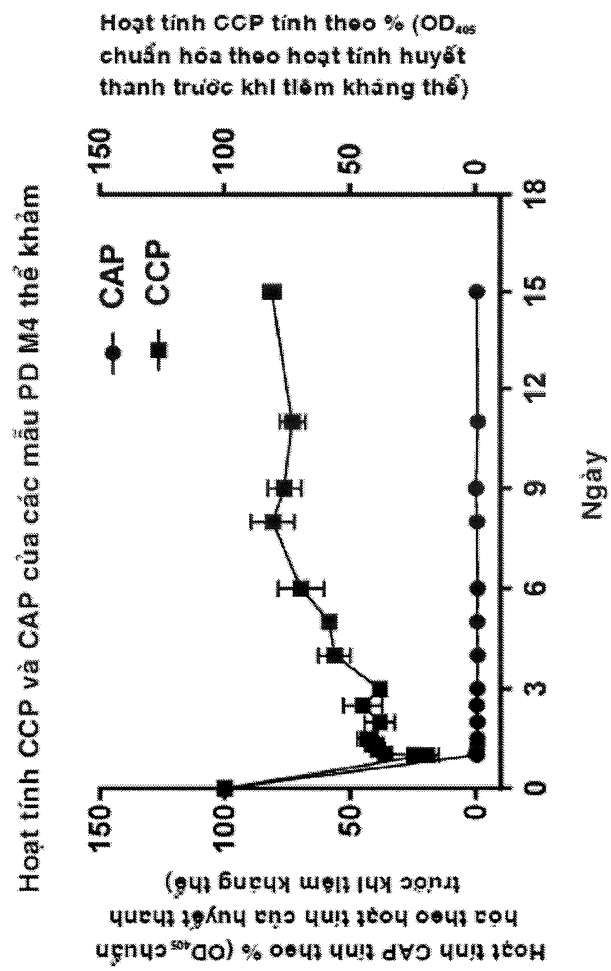
23/28

Hình 18

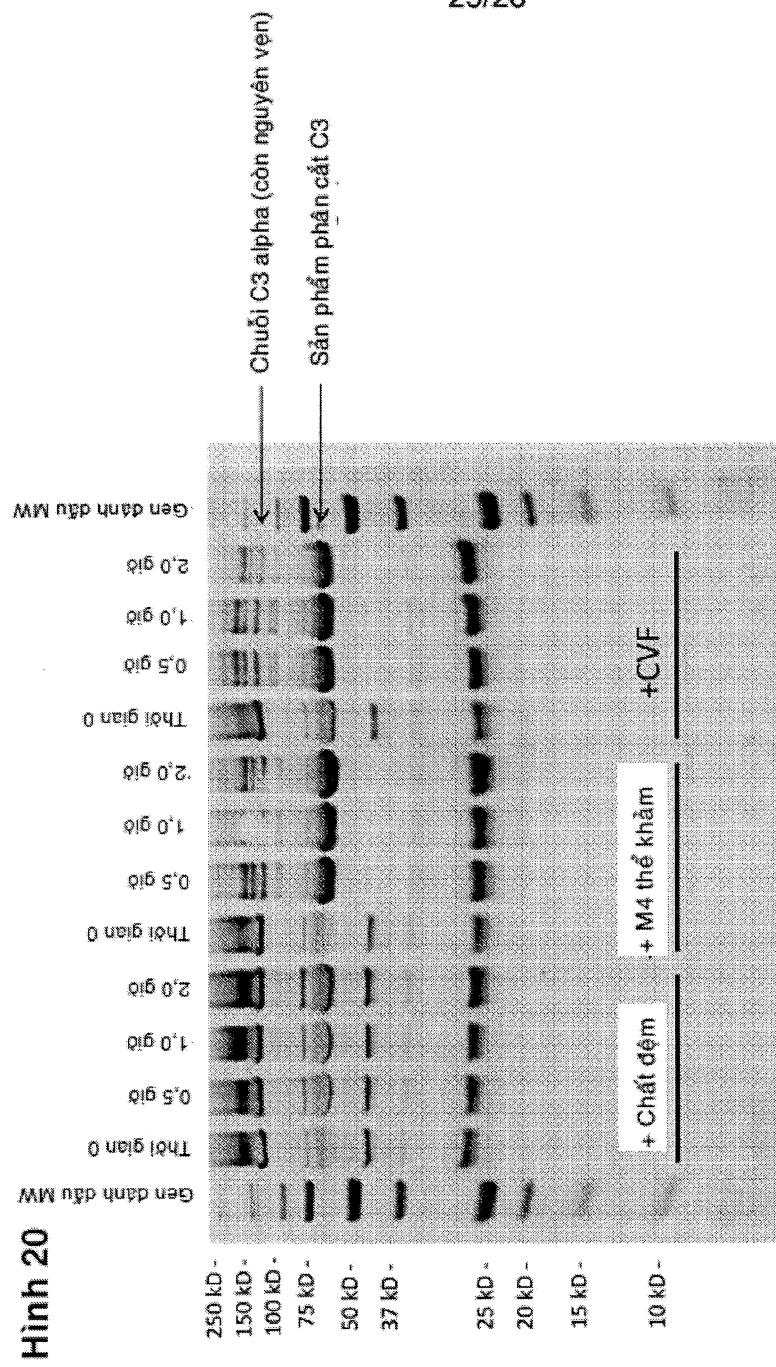


24/28

Hình 19

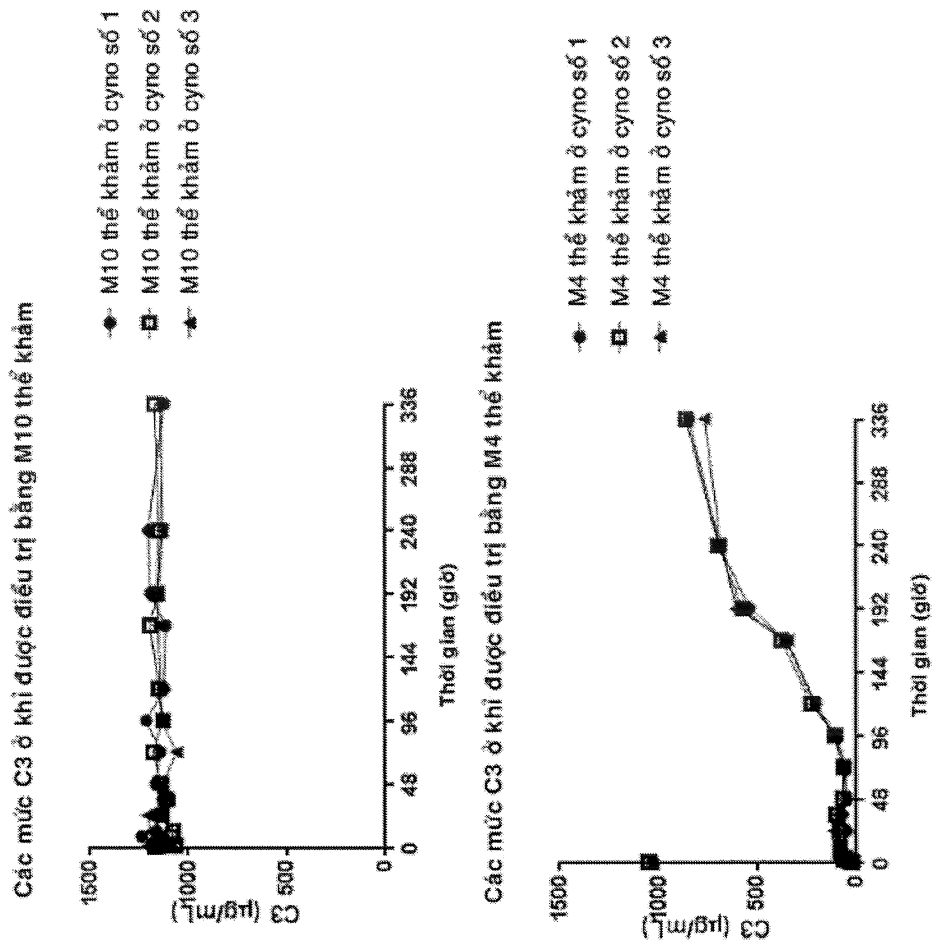


25/28



26/28

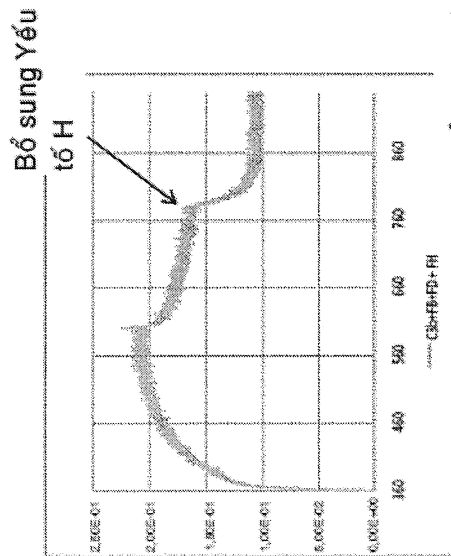
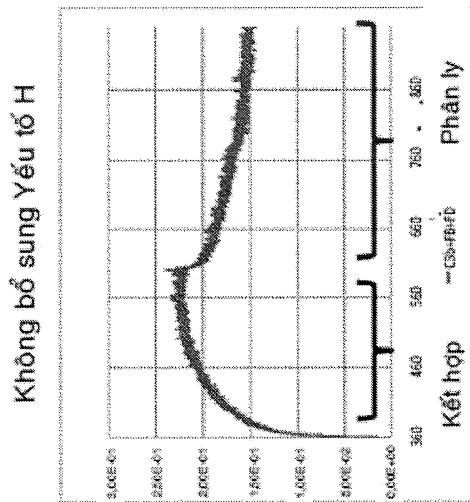
Hình 21



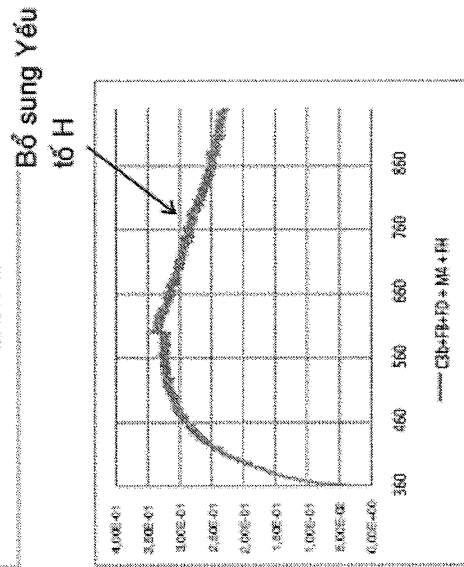
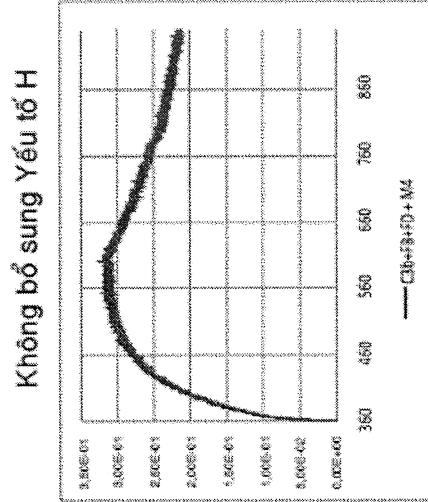
27/28

Hình 22

Không có
kháng thể

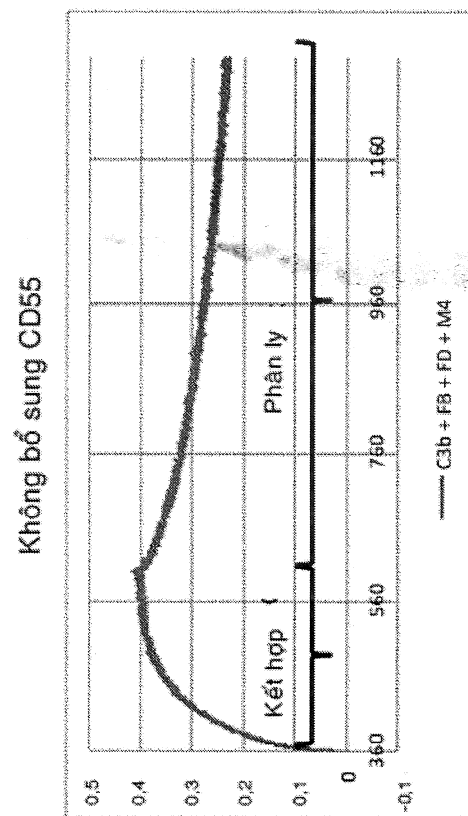


+ Kháng
thể M4

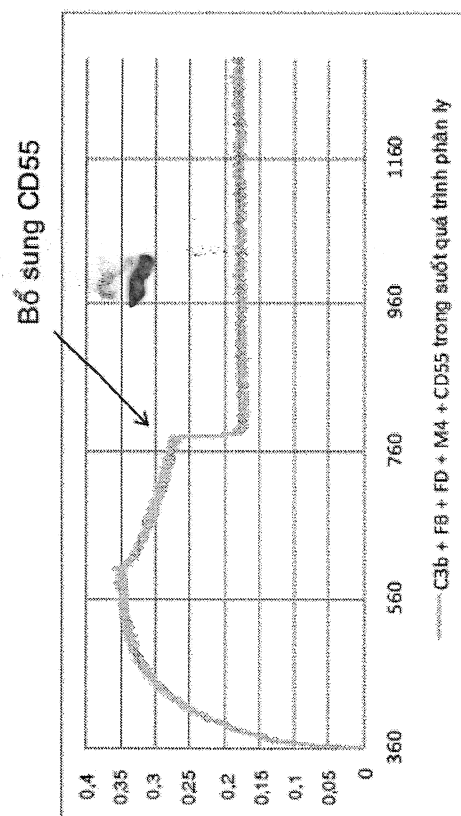


Hình 23

+ Kháng
thể M4



+ Kháng
thể M4



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Panicker, Sandip
Parry, Graham
Christopherson, Karen S
Byun, SangYoung

<120> KHÁNG THỂ KHÁNG YẾU TỔ BỎ THỂ BB VÀ DUỘC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> TNRX-900WO

<140> PCT/US17/25784

<141> 03-04-2017

<150> 62/317,897

<151> 04-04-2016

<160> 98

<170> Patent phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 1

Gln Asp Val Gly Thr Ala
1 5

<210> 2

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 2

Trp Ala Ser

1

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 3

His Gln His Ser Ser Asn Pro Leu Thr
1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 5

Ile Ser Asn Arg Gly Ser Tyr Thr
1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 6

Ala Arg Glu Arg Pro Met Asp Tyr
1 5

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys His Gln His Ser Ser Asn Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 8

<211> 115

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
 115

<210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 9

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
 1 5 10

<210> 10
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 10

Arg Met Ser
 1

<210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 11

Ala Gln Met Leu Glu Arg Pro Trp Thr

1

5

<210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 12

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Leu
 1 5

<210> 13
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 13

Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Ala
 1 5

<210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 14

Ala Arg Leu Glu Asn Asp Tyr Gly Phe Thr Tyr
 1 5 10

<210> 15
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 15

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly

6

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

Ala Arg Leu Glu Asn Asp Tyr Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 17
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 17

Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 18
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 18

Tyr Thr Ser
 1

<210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 19

Gln Gln His Ser Lys Leu Pro Trp Thr
 1 5

<210> 20

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 20

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly
 1 5 10

<210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 21

Ile Trp Trp Asn Asp Asp Lys
 1 5

<210> 22
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 22

Val Gln Ile Pro Tyr Gly Ser Arg Asn Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

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

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 23

Thr His Tyr Arg Ala Ser Ser Gly Ile Asn Ala Glu Tyr Met Gly Gly
 1 5 10 15

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

20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ser Lys Leu Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 24
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự Tổng hợp
 <400> 24
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
 20 25 30
 Gly Leu Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Ser Asp
 50 55 60
 Leu Lys Arg Arg Pro Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Asn Ser Gln Val
 65 70 75 80
 Phe Leu Lys Ile Ser Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
 85 90 95

Cys Val Gln Ile Pro Tyr Gly Ser Arg Asn Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 25
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 25

Gln Asp Val Gly Ser Ala
 1 5

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 26

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 27
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 27

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Ala
 1 5

<210> 28
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 28

Ile Ser Asn Gly Gly Gly Tyr Thr
1 5

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 29

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Glu Asp Trp Phe Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 30

Asp Ile Val Met Thr Pro Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 31
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 31

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Glu Asp Trp Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 32

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 33

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 34

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 35

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 36
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 36

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 37

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 37

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 38

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 38

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 39

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 39

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 40

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 41

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 42

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 43
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 43

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 44
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 44

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 45
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 45

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 46

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 47
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 47

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 48
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 48

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 49

<211> 764

<212> PRT

<213> Người khôn ngoan

<400> 49

Met Gly Ser Asn Leu Ser Pro Gln Leu Cys Leu Met Pro Phe Ile Leu
1 5 10 15

Gly Leu Leu Ser Gly Gly Val Thr Thr Thr Pro Trp Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Pro Gln Gly Ser Cys Ser Leu Glu Gly Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser
35 40 45

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

Gly Phe Tyr Pro Tyr Pro Val Gln Thr Arg Thr Cys Arg Ser Thr Gly
65 70 75 80

Ser Trp Ser Thr Leu Lys Thr Gln Asp Gln Lys Thr Val Arg Lys Ala
85 90 95

Glu Cys Arg Ala Ile His Cys Pro Arg Pro His Asp Phe Glu Asn Gly
100 105 110

Glu Tyr Trp Pro Arg Ser Pro Tyr Tyr Asn Val Ser Asp Glu Ile Ser
115 120 125

Phe His Cys Tyr Asp Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ala Asn Arg Thr
130 135 140

Cys Gln Val Asn Gly Arg Trp Ser Gly Gln Thr Ala Ile Cys Asp Asn
145 150 155 160

Gly Ala Gly Tyr Cys Ser Asn Pro Gly Ile Pro Ile Gly Thr Arg Lys
165 170 175

Val Gly Ser Gln Tyr Arg Leu Glu Asp Ser Val Thr Tyr His Cys Ser
180 185 190

Arg Gly Leu Thr Leu Arg Gly Ser Gln Arg Arg Thr Cys Gln Glu Gly
195 200 205

Gly Ser Trp Ser Gly Thr Glu Pro Ser Cys Gln Asp Ser Phe Met Tyr
210 215 220

Asp Thr Pro Gln Glu Val Ala Glu Ala Phe Leu Ser Ser Leu Thr Glu
225 230 235 240

Thr Ile Glu Gly Val Asp Ala Glu Asp Gly His Gly Pro Gly Glu Gln
245 250 255

Gln Lys Arg Lys Ile Val Leu Asp Pro Ser Gly Ser Met Asn Ile Tyr
260 265 270

Leu Val Leu Asp Gly Ser Asp Ser Ile Gly Ala Ser Asn Phe Thr Gly
275 280 285

Ala Lys Lys Cys Leu Val Asn Leu Ile Glu Lys Val Ala Ser Tyr Gly
290 295 300

Val Lys Pro Arg Tyr Gly Leu Val Thr Tyr Ala Thr Tyr Pro Lys Ile
305 310 315 320

Trp Val Lys Val Ser Glu Ala Asp Ser Ser Asn Ala Asp Trp Val Thr
325 330 335

Lys Gln Leu Asn Glu Ile Asn Tyr Glu Asp His Lys Leu Lys Ser Gly
340 345 350

Thr Asn Thr Lys Lys Ala Leu Gln Ala Val Tyr Ser Met Met Ser Trp
355 360 365

Pro Asp Asp Val Pro Pro Glu Gly Trp Asn Arg Thr Arg His Val Ile
370 375 380

Ile Leu Met Thr Asp Gly Leu His Asn Met Gly Gly Asp Pro Ile Thr
385 390 395 400

Val Ile Asp Glu Ile Arg Asp Leu Leu Tyr Ile Gly Lys Asp Arg Lys
 405 410 415

Asn Pro Arg Glu Asp Tyr Leu Asp Val Tyr Val Phe Gly Val Gly Pro
 420 425 430

Leu Val Asn Gln Val Asn Ile Asn Ala Leu Ala Ser Lys Lys Asp Asn
 435 440 445

Glu Gln His Val Phe Lys Val Lys Asp Met Glu Asn Leu Glu Asp Val
 450 455 460

Phe Tyr Gln Met Ile Asp Glu Ser Gln Ser Leu Ser Leu Cys Gly Met
 465 470 475 480

Val Trp Glu His Arg Lys Gly Thr Asp Tyr His Lys Gln Pro Trp Gln
 485 490 495

Ala Lys Ile Ser Val Ile Arg Pro Ser Lys Gly His Glu Ser Cys Met
 500 505 510

Gly Ala Val Val Ser Glu Tyr Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe
 515 520 525

Thr Val Asp Asp Lys Glu His Ser Ile Lys Val Ser Val Gly Gly Glu
 530 535 540

Lys Arg Asp Leu Glu Ile Glu Val Val Leu Phe His Pro Asn Tyr Asn
 545 550 555 560

Ile Asn Gly Lys Lys Glu Ala Gly Ile Pro Glu Phe Tyr Asp Tyr Asp
 565 570 575

Val Ala Leu Ile Lys Leu Lys Asn Lys Leu Lys Tyr Gly Gln Thr Ile
 580 585 590

Arg Pro Ile Cys Leu Pro Cys Thr Glu Gly Thr Thr Arg Ala Leu Arg
 595 600 605

Leu Pro Pro Thr Thr Thr Cys Gln Gln Gln Lys Glu Glu Leu Leu Pro
 610 615 620

Ala Gln Asp Ile Lys Ala Leu Phe Val Ser Glu Glu Glu Lys Lys Leu
625 630 635 640

Thr Arg Lys Glu Val Tyr Ile Lys Asn Gly Asp Lys Lys Gly Ser Cys
645 650 655

Glu Arg Asp Ala Gln Tyr Ala Pro Gly Tyr Asp Lys Val Lys Asp Ile
660 665 670

Ser Glu Val Val Thr Pro Arg Phe Leu Cys Thr Gly Gly Val Ser Pro
675 680 685

Tyr Ala Asp Pro Asn Thr Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile
690 695 700

Val His Lys Arg Ser Arg Phe Ile Gln Val Gly Val Ile Ser Trp Gly
705 710 715 720

Val Val Asp Val Cys Lys Asn Gln Lys Arg Gln Lys Gln Val Pro Ala
725 730 735

His Ala Arg Asp Phe His Ile Asn Leu Phe Gln Val Leu Pro Trp Leu
740 745 750

Lys Glu Lys Leu Gln Asp Glu Asp Leu Gly Phe Leu
755 760

<210> 50

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 50

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 51

<211> 13

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 51

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10

<210> 52
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 52

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

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

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 53

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 54
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 54

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 55
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 55

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
 20 25

<210> 56
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 56

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 1 5 10

<210> 57
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 57

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15

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

<210> 58
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 58

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 59
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 59

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
 20 25

<210> 60
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 60

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 1 5 10

<210> 61
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 61

Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 62

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 63
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 63

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
 20

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 64

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 65
 <211> 32

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 65

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 66

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 67
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 67

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys
			20			

<210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 68

Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 69

<211> 32

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 69

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	

Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 70

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 71

<211> 23

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 71

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

Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys
				20		

<210> 72
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 72

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 73
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 73

Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	

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

<210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 74

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 75
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<220>

<221> Đặc tính pha tạp
 <222> (1)..(5)
 <223> Khoảng rộng này của các gốc có thể được lặp lại
 <400> 75

Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 76
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<220>
 <221> Đặc tính pha tạp
 <222> (1)..(4)
 <223> Khoảng rộng này của các gốc có thể được lặp lại.
 <400> 76

Gly Gly Gly Ser
 1

<210> 77
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 77

Gly Gly Ser Gly
 1

<210> 78
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 78

Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5

<210> 79
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 79

Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5

<210> 80
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 80

Gly Ser Gly Gly Gly
 1 5

<210> 81
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 81

Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 82
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 82

Gly Ser Ser Ser Gly
 1 5

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 83

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 84

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5

<210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 85

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10

<210> 86
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 86

His His His His His
 1 5

<210> 87
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 87

His His His His His His
 1 5

<210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 88

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10

<210> 89
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 89

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 1 5

<210> 90
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 90

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 91
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 91

Arg Tyr Ile Arg Ser
 1 5

<210> 92
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 92

Phe His His Thr
 1

<210> 93
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 93

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
 1 5 10 15

Ala

<210> 94
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự Tổng hợp

<400> 94

Thr	Phe	Phe	Tyr	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Arg	Asn	Asn	Phe	Lys	Thr
1				5					10					15	

Glu Glu Tyr

<210> 95

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 95

Cys	Thr	Phe	Phe	Tyr	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Arg	Asn	Asn	Phe	Lys
1				5					10					15	

Thr	Glu	Glu	Tyr
			20

<210> 96

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 96

Thr	Phe	Phe	Tyr	Gly	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Arg	Asn	Asn	Phe	Lys	Thr
1				5					10					15	

Glu	Glu	Tyr	Cys
			20

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 97

Thr	Phe	Val	Tyr	Gly	Gly	Cys	Arg	Ala	Lys	Arg	Asn	Asn	Phe	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 98

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự Tổng hợp

<400> 98

Thr	Phe	Phe	Tyr	Gly	Gly	Cys	Arg	Gly	Lys	Arg	Asn	Asn	Phe	Lys	Thr
1				5					10					15	

Glu Glu Tyr